

Über die in  
**DATURA PITTIERI (Safford)**  
enthaltenen Alkaloide

Von Rupprecht Oberle  
aus Erlangen







Über die in  
D A T U R A P I T T I E R I ( S a f f o r d )  
e n t h a l t e n e n A l k a l o i d e

der Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von

Rupprecht Oberle  
aus Erlangen

1959



Als Dissertation genehmigt  
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Universität Erlangen

Tag der mündlichen Prüfung: 15.7.1959

Dekan: Universitätsprofessor Dr. R.Fleischmann

Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. R.Pfleger

Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. O.Dann

Meinen Eltern



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

Herrn Professor Dr. R. Pfleger danke ich sehr  
herzlich für das Thema dieser Arbeit, für seine  
zahlreichen Ratschläge und für die grosszügige  
Unterstützung, die ich jederzeit bei ihm fand.



## I n h a l t s v e r z e i c h n i s

|            | Seite |
|------------|-------|
| Einleitung | 3     |

### T e i l I

#### Gewinnung alkaloidartiger Inhaltsstoffe

|                            |   |
|----------------------------|---|
| A) Vorbehandlung der Droge | 7 |
| B) Extraktion der Droge    | 9 |

### T e i l II

#### Eigenschaften der alkaloidartigen Inhaltsstoffe

|                                            |    |
|--------------------------------------------|----|
| A) Physikalisch - chemische Eigenschaften  | 21 |
| B) Papierchromatographische Untersuchungen | 26 |
| C) Papierelektrophoretische Untersuchungen | 37 |

### T e i l III

#### Versuche zur Trennung des Rohalkaloidbasengemisches

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| A) Verteilung verschiedener Salze des Rohalkaloidbasengemisches zwischen Chloroform und Wasser                                        | 45 |
| B) Fraktioniertes Ausschütteln wässriger, gepufferter Rohalkaloidbasengemisch-Lösungen mit Chloroform in Abhängigkeit vom $p_H$ -Wert | 49 |
| C) Multiplikative Verteilung des Rohalkaloidbasengemisches zwischen Chloroform und Phosphat-Zitronensäurepuffer vom $p_H$ 6           | 54 |

|                                             | Seite |
|---------------------------------------------|-------|
| D) Adsorptionschromatographische Versuche   |       |
| Versuche zur Trennung des Rohalkaloidbasen- |       |
| gemisches als Reineckat an Aluminiumoxyd    | 60    |
| E) Verteilungschromatographische Versuche   |       |
| Versuche zur Trennung des Rohalkaloidbasen- |       |
| gemisches                                   |       |
| 1) an Zellulosepulver                       | 63    |
| 2) an gepuffertem Zellulosepulver           | 66    |
| 3) an gepuffertem Silicagel                 | 69    |

#### T e i l IV

|                                                 |    |
|-------------------------------------------------|----|
| A) Charakterisierung der aus der Droge isolier- |    |
| ten Reinsubstanzen                              | 72 |
| B) Zusammenfassung                              | 81 |
| C) Literaturverzeichnis                         | 83 |

## E i n l e i t u n g



In Südamerika ist man vor einiger Zeit durch mehrere Vergiftungsfälle auf eine *Datura* - Art aufmerksam geworden, die bis heute in der Literatur kaum erwähnt worden ist. Es handelt sich um die Solanaceenpflanze *Datura Pittieri* (Safford).

Kinder waren nach dem Genuss einiger Samen dieser Pflanze mit einer enormen Mydriasis und schweren Krämpfen in eine Klinik eingeliefert worden. Nach einem Zustand höchster Erregung fielen sie in einen tiefen Schlaf. Am darauffolgenden Tag konnten sie sich an nichts mehr erinnern, was sich vom Moment der Intoxikation an zugetragen hatte<sup>x)</sup>.

Bekannt wurden auch einige Fälle räuberischer Verbrechen, die mit Hilfe der Samen ausgeführt worden waren. Die Opfer fielen nach dem Genuss mehrerer Samen, die ihnen gepulvert in den Kaffee gegeben worden waren, in einen Dämmer Schlaf, aus dem sie erst nach einigen Stunden wieder erwachten. Auch sie konnten sich an das Vorhergegangene nicht mehr erinnern<sup>xx)</sup>.

Ursprünglich wurde bei allen Vergiftungsfällen wegen der auftretenden starken Mydriasis eine Atropinvergiftung angenommen. Die eigenartigen Begleiterscheinungen jedoch, das Excitationsstadium, die narkotische Schwächung bzw. kurzzeitige Auslöschung des Gedächtnisses liessen bald den Verdacht aufkommen, dass es sich hier vielleicht um eine komplexe oder potenzierende Wirkung mehrerer Alkaloide handeln könnte.

Beim Studium der Literatur wurde festgestellt, dass ähnliche Erscheinungen auch bei anderen *Datura* - Arten beobachtet worden sind. *C. Stern* und *A. v. Ende* s

x) xx) Privatmitteilung von Herrn Prof. Dr. Carl Seelkopf, Mérida Venezuela.

(1) schreiben, dass die Andenbewohner heute noch die *Datura sanguinea*, den blutroten Stechapfel als Inspirationspflanze verwenden. Auch A. Tschirsch (2) erwähnt, dass in Peru aus dem Samen der *Datura quercifolia* der schlafferzeugende "Tongatrunk" hergestellt wird. Nach Hager's Handbuch (3) benützt man die Blätter verschiedener *Datura*-Arten in Südamerika, Indien und Australien als Berauschungsmittel und auch Victor A. Reko (4) berichtet, dass schon bei den Mayos ein Rauschgift, "Toluachi" genannt, aus den Blättern verschiedener *Datura*-Arten hergestellt wurde.

Da systematisch verwandte Pflanzen häufig auch chemisch ähnlich gebaute und pharmakologisch ähnlich wirkende Inhaltsstoffe aufweisen, war an diese Korrelation erst recht bei den einzelnen Arten von *Datura* zu denken. Es wurden deshalb zunächst einmal alle in der Literatur bisher beschriebenen *Datura*-Arten tabellarisch bezüglich der daraus gewonnenen Alkaloide zum Vergleich zusammengestellt.

Tab.1

| <i>Datura</i> -Arten                              | Scopolamin | Atropin | Hyoscyamin | Meteloidin | Valeroidin | Tigloidin | Unbekannte u. andere Alkaloide |
|---------------------------------------------------|------------|---------|------------|------------|------------|-----------|--------------------------------|
| <i>Datura alba</i><br>Hager (3)                   | +          | +       | +          | -          | -          | -         | -                              |
| <i>Datura arborea</i><br>Tschirsch (2)            | +          | +       | +          | -          | -          | -         | -                              |
| <i>Datura ferox</i><br>Evans u. Partridge (5)     | +          | -       | -          | +          | -          | -         | + (5)<br>+ (11)<br>+ (17)      |
| <i>Datura innoxia</i><br>Evans u. Partridge (6)   | +          | -       | +          | +          | -          | -         | + (12)<br>+ (18)               |
| <i>Datura metel</i><br>Tschirsch (2)              | +          | +       | +          | -          | -          | -         | -                              |
| <i>Datura meteloides</i><br>Ryman u. Reynolds (7) | +          | +       | -          | +          | -          | -         | -                              |

Fortsetzung v. Tab.1

| <i>Datura</i> Arten                              | Scopol-<br>amin | Atro-<br>pin | Hyos-<br>cyamin | Melo-<br>loidin | Vale-<br>roidin | Tig-<br>loidin | unbekannte<br>u. andere<br>Alkaloide |
|--------------------------------------------------|-----------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|--------------------------------------|
| <i>Datura quercifolia</i><br>Tschirsch (2)       | +               | +            | +               | -               | -               | -              | -                                    |
| <i>Datura sanguinea</i><br>Dray u. Foster (8)    | +               | -            | +               | -               | +               | +              | + + (8)                              |
| <i>Datura stramonium</i><br>Schmidt - Wettar (9) | +               | +            | +               | -               | -               | -              | + (17)                               |
| <i>Datura tatula</i><br>Katsumi Schimada (14)    | -               | -            | +               | -               | -               | -              | + (17)                               |

Dieser Übersicht ist zu entnehmen, dass die Zahl der in den *Datura* - Arten vorkommenden, bekannten Alkaloide relativ klein ist. Nach der Häufigkeit zu schliessen, mit der diese einzelnen Alkaloide, vor allem aber Scopolamin, in den verschiedenen *Datura* - Arten auftreten, war die Möglichkeit gegeben, dass die *DATURA PITTIERI* (Safford) zumindest Scopolamin und vielleicht auch noch andere Solanaceenalkaloide enthält.

Bei der *DATURA PITTIERI* (Safford) handelt es sich um einen in Südamerika beheimateten Strauch oder kleinen Baum. In Venezuela wird er auch "Borrachera" (= Rauschdroge) oder wegen der Ähnlichkeit seiner Früchte mit denen des Kakaobaumes "Cacaito" (= kleiner Kakao) genannt. Er wächst in einer Höhe von 1700-2500 m entlang der Bachufer, sowohl in Venezuela als auch in Kolumbien. Ein naher Verwandter ist die *Datura arborea*, die auch in manchen europäischen botanischen Gärten zu finden ist.

Die *DATURA PITTIERI* (Safford) wurde zum ersten Mal im Jahre 1906 von H. P i t t i e r gesammelt und in der Literatur erwähnt. W. E. S a f f o r d (13) hat sie dann wie folgt beschrieben:

"Sie besitzt ovale, lanzettförmige, ganze Blätter, ungleichförmig am Blattgrund und wenig behaart. Die jungen Blätter sind fast unbehaart, 17-18 cm lang, 7,5 cm breit mit unbehaarten, 2,5 cm langen Blattstielen. Der blättrige Kelch ist 10 cm lang, das ist mehr als die Hälfte der Blütenkrone und endet am Scheitel in 2 stumpfen Zähnen. Die Blütenkrone ist eine 18 cm lange, enge Röhre, die unten nur 2,5 cm breit ist. Der Teil über der Mitte ist glockenförmig und trompetenähnlich, 6 cm im Durchmesser und endet oben in fünf 4 cm langen, nach innen gekrümmten Zähnen. Der Stempel ist 14 cm lang, der Griffel dünn und fadenähnlich; die Narbe ist kurz und dick und ungefähr 7 mm lang. Die Staubfäden sind 13,5 cm lang und 5,5 mm dick."

Die Frucht von *DATURA PITTIERI* (Safford) wurde weder von W.E. S a f f o r d noch von anderen Autoren genau beschrieben, weshalb ihre Beschreibung im Folgenden auf Grund der hierfür zur Verfügung gestandenen Droge vorgenommen werden mag.

Die bearbeitete Droge stellt eine Sammelfrucht dar, deren Einzelfrüchte zu einem 10-12 cm langen, in der Mitte 3 cm breiten, zapfenförmigen Fruchtstand vereinigt sind. Die Einzelfrucht besteht aus einem hellbraunen, korkartigen Perikarp und einem sehr harten, 9 mm langen und 5 mm breiten Samen.

Ein Versuch, auch bei uns Samen der *DATURA PITTIERI* (Safford) zum Keimen zu bringen, gelang. Die Keimlinge entwickelten sich innerhalb eines halben Jahres bei Zimmertemperatur und relativ viel Feuchtigkeit zu 150-200 cm hohen Pflanzen, die auch Ansätze zur Blütenbildung zeigten. Ihr Habitus stimmte mit der Beschreibung von W.E. S a f f o r d überein. Ihre Blätter wurden gesammelt, getrocknet und ebenfalls auf die darin enthaltenen Alkaloide untersucht (vgl. S. 35).

In vorliegender Arbeit sollte die Droge auf Alkaloide, insbesondere auf noch nicht bekannte *D a t u r a* - Alkaloide untersucht werden, die möglicherweise die eingangs erwähnten eigenartigen pharmakologischen Wirkungen erklären könnten.

T E I L I

Gewinnung alkaloidartiger Inhaltsstoffe



1) Vorbehandlung der Droge

Für die Gewinnung von Alkaloiden standen nur die Früchte von DATURA PITTIERI (Safford) zur Verfügung.

Um feststellen zu können, ob sowohl der Same als auch das Perikarp alkaloidhaltig ist, wurde in einem Vorversuch eine getrennte Bearbeitung der genannten Fruchtteile vorgenommen.

a) 400 g Fruchtmaterial wurden zunächst manuell in Samen und Perikarp getrennt. Das mittlere Samengewicht betrug 51 mg (aus 100 Samen ermittelt). Nach der Trennung ergaben sich folgende Anteile:

|          |   |                             |
|----------|---|-----------------------------|
| Samen    | : | 195 g ( 48,7 % der Frucht ) |
| Perikarp | : | 205 g ( 51,3 % der Frucht ) |

---

|        |   |       |
|--------|---|-------|
| Frucht | : | 400 g |
|--------|---|-------|

Die Samen wurden dann im Multimix zerkleinert, durch ein feinmaschiges Sieb geschlagen und das so erhaltene braune, eigenartig riechende, fettige Pulver im Soxhlet mit Petroläther solange extrahiert, bis die übliche Fettfleckprobe negativ ausfiel. Das nun schon etwas sprödere Samenpulver konnte dann im Multimix völlig pulverisiert werden. Anschliessend wurde es zur Entfernung von Ölresten nochmals mit Petroläther extrahiert. Die Petrolätherextrakte

wurden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit. Es hinterblieben 70 g einer öligen, stickstofffreien Flüssigkeit ( =Samenöl ), aus der sich bei längerem Stehen eine beachtliche Menge eines farblosen, kristallinen Niederschlags (s.S.79) abschied.

Samenpulver (entfettet) : 123 g ( 63,7 % des Samens )

Samenöl : 70 g ( 36,3 % des Samens )

---

Samenpulver (fetthaltig): 193 g

b) Eine kleine Menge Perikarp wurde zuerst mit Petroläther und anschliessend mit verdünnter Schwefelsäure extrahiert. Da nachgewiesen werden konnte, dass das Perikarp frei von alkaloidhaltigen Bestandteilen ist - in einem mit Hilfe von verdünnter Schwefelsäure hergestellten Extrakt aus dem Perikarp konnten auch mit verschiedenen Alkaloidfällungsreagenzien keine entsprechenden Produkte nachgewiesen werden - wurde später von der zeitraubenden Abtrennung des Perikarps vom Samen abgesehen. In vorliegender Arbeit wird deshalb unter der Droge die gesamte Frucht (=Samen + Perikarp) verstanden.

Bei der später vorgenommenen präparativen Gewinnung des Rohalkaloidbasengemisches (s.S.13) wurde dann die Droge in einer Gewürzmühle fein gemahlen und anschliessend in einem Glasrohr nach dem Perkulatorprinzip mit Petroläther entfettet.

## 2) Extraktion der Droge

Da vorliegende D a t u r a - Art Solanaceenalkaloide, also Ester von Alkanolaminen erwarten liess, musste die Isolierung der Alkaloide unter möglichst schonenden Bedingungen angegangen werden. Um feststellen zu können, ob bei der Gewinnung der Alkaloide verschiedene Rohmaterialien resultieren, je nachdem man in sauer-wässrigem oder in ammoniakalisch-wasserfreiem Medium arbeitet, wurden zwei entsprechende Arbeitsrichtungen eingeschlagen:

- a) Extraktion des Samenpulvers mit verdünnter Schwefelsäure.
- b) Extraktion des Drogenpulvers mit ammoniakhaltigem organischem Lösungsmittel.

### a) Extraktion des Samenpulvers mit verdünnter Schwefelsäure

123 g entfettetes Samenpulver<sup>x)</sup> wurden mit 1 Liter 5%iger Schwefelsäure unter öfterem Umschütteln 22 Stunden lang mazeriert. Der unangenehm riechende Drogenbrei wurde dann abgenutscht und der noch feuchte Rückstand zur völligen Herauslösung von Alkaloiden noch zweimal mit je 700 ml 5%iger Schwefelsäure in analoger Weise jeweils 48 Stunden behandelt. Die vereinigten schwefelsauren Auszüge wurden nach folgendem Schema aufgearbeitet:

x) Anmerkung: Für diesen Versuch wurden die Samen ohne Perikarp verwendet.



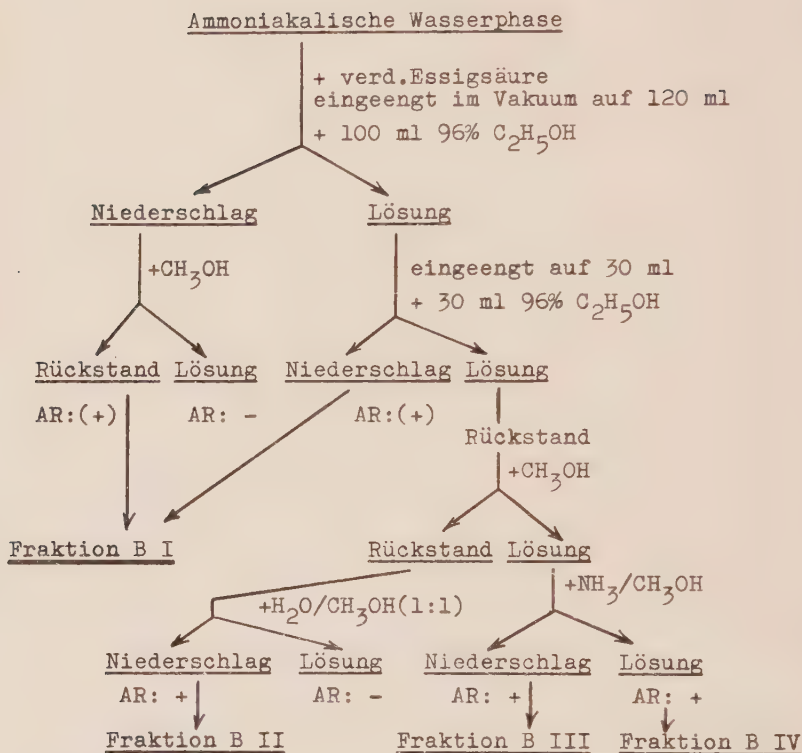
mit Natriumsulfat vom Lösungsmittel befreit. Als Rückstand blieb dann die Fraktion "Alkaloide A II", eine braune, zähflüssige Masse von eigenartigem Geruch, die mit verschiedenen Alkaloidfällungsreagenzien fällbar war. Die Ausbeute betrug 0,877 g (= 0,71 % bezogen auf entfettetes Samenpulver). Eine eingehende Untersuchung bzw. Charakterisierung dieser Fraktion erfolgt an späterer Stelle (s.S.21 bzw.S.26).

Beim Ausschütteln des ammoniakalisch gemachten, schwefelsauren Auszugs mit peroxydfreiem Äther waren sehr hartnäckige Emulsionen entstanden, deren Trennung sich sehr schwierig und insbesondere langwierig gestaltete, sodass unter diesen Bedingungen eine etwaige Hydrolyse alkaloidartiger Stoffe immerhin eintreten konnte. Infolgedessen verlor schon von Anfang an diese Methode zur Gewinnung alkaloidartiger Inhaltsstoffe aus der Droge an Bedeutung.

Es war nun aber auch die Beobachtung gemacht worden, dass die Wasserphase A I auch nach 10maligem Ausschütteln mit Äther bei der Prüfung mit Alkaloidfällungsreagenzien, z.B. mit Mayer's- oder Dragendorff's-Reagenz, immer noch das Vorhandensein solcher Substanzen bestätigte. Auch ein Ausschütteln mit Xylol, Benzol, Chloroform, Essigester und n-Butanol blieb erfolglos. Nachdem selbst eine kontinuierliche Extraktion der ammoniakalischen Wasserphase mit Äther in der Kutscher-Stäudel-Apparatur nicht zum Ziel führte, musste angenommen werden, dass es sich hierbei um mit Alkaloidfällungsreagenzien fällbare, extrem wasserlösliche Substanzen handelt, für die mit einem gewissen Vorbehalt die Bezeichnung "Wasserlösliche Alkaloide" gewählt wurde.

Der Vollständigkeit wegen wurde nun auch die Isolierung der in der Wasserphase A I enthaltenen, mit Alkaloidfällungsreagenzien fällbaren Substanzen angestrebt. Zu diesem Zweck wurde die Wasserphase A I entsprechend den im Schema II gemachten Angaben weiter fraktioniert.

Schema II



Abkürzungen:

- AR = Alkaloidfällungsreagenzien  
+ = positive Reaktion  
(+) = schwach positive Reaktion  
- = negative Reaktion

Ergänzend zu obigem Schema sei noch angeführt, dass die in den Fraktionen B I, B II, B III und B IV enthaltenen alkaloidartigen Produkte noch durch eine Fällung mit Mayer's

Reagenz von Salzen und etwaigen Ballaststoffen weitgehend befreit wurden. Zu diesem Zweck wurden die entsprechenden Produkte in essigsaurer Lösung mit Mayer's Reagenz ausgefällt, die Fällung abzentrifugiert und mit Wasser gründlich gewaschen. Die jeweiligen Fällungsprodukte wurden dann in Wasser suspendiert, die Suspension mit einigen Tropfen verdünnter Salzsäure angesäuert und das gebundene Quecksilber durch Einleiten von Schwefelwasserstoff eliminiert. Die erhaltene Lösung wurde dann nach Neutralisation jeweils zur Trockne eingedampft. Die hierbei erhaltenen Rückstände entsprachen dann den Bezeichnungen B I, B II, B III und B IV.

Fraktion B I war in etwa 50% wässrigem Alkohol und ebenso in reinem Methanol unlöslich, Fraktion B III und B IV waren dagegen in verdünntem Alkohol und reinem Methanol gut löslich, während die Fraktion B II bezüglich ihrer Löslichkeit eine Mittelstellung zwischen den bereits genannten Fraktionen einnahm.

Auf Grund dieser recht unterschiedlichen Löslichkeitsverhältnisse war anzunehmen, dass es sich auch wirklich um verschiedene Produkte handeln wird. Durch die an anderer Stelle (s.S.23 u.38 ff) vorgenommenen Charakterisierungen dieser Produkte konnte diese Annahme weiter bestätigt werden.

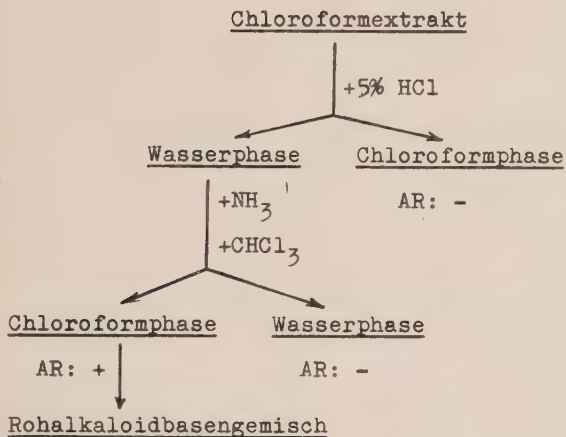
#### b) Extraktion der Droge mit organischen Lösungsmitteln

Wie sich später herausstellte (s.S.17), war nachstehend angegebene Methode zur Gewinnung der alkaloidartigen Rohprodukte am besten geeignet, sodass auch künftig bei der Darstellung solcher Produkte entsprechend verfahren wurde. Ausserdem war unter diesen Bedingungen auch eine bestmögliche Schonung dieser alkaloidartigen Inhaltsstoffe gewährleistet.

Die Extraktion der Droge gestaltete sich folgendermassen:

Um die in der Droge vorhandenen, gegebenenfalls salzartig gebundenen alkaloidartigen Basen in Freiheit zu setzen, wurde die Droge anfangs mit ammoniakhaltigem Chloroform behandelt. Zu diesem Zweck wurde entfettetes Drogenpulver (etwa 900 g) in kleinen Anteilen in ein Glasrohr (Länge: 2m; Durchmesser: 48 mm) fest eingepresst und unter Ausschluss von Luftfeuchtigkeit zunächst mit 5 Liter ammoniakhaltigem Chloroform (mit getrocknetem  $\text{NH}_3$ -gesättigtem Chloroform; Ammoniakgehalt ~~ca~~ 4%) perkoliert. Im Anschluss daran wurde noch mit 10 Liter ammoniakfreiem Chloroform in entsprechender Weise verfahren. Um die Extraktivstoffe bei der Aufarbeitung des Chloroformextraktes nicht unnötig einer längeren Einwirkung von Ammoniak aussetzen zu müssen, wurde der erste Extrakt (entsprechend 5 Liter ammoniakhaltigem Chloroform) zunächst getrennt von dem anschliessend erhaltenen Extrakt (entsprechend 10 Liter Chloroform) aufgearbeitet und zwar in der Weise, dass etwa  $\frac{3}{4}$  des Lösungsmittels jeweils im Vakuum unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre abdestilliert wurde. Die so eingeengten Chloroformextrakte wurden dann vereinigt und unter den gleichen Bedingungen schliesslich noch soweit eingeengt, dass stets 200-300 ml Chloroformextrakt, eine grün-braune Flüssigkeit, erhalten wurden. Dieser Chloroformextrakt wurde dann entsprechend den im Schema III gemachten Angaben zu dem als Rohalkaloidbasengemisch bezeichneten Produkt aufgearbeitet.

Schema III



Abkürzungen:

AR = Alkaloidfällungsreagenzien

+ = positive Reaktion

- = negative Reaktion

Die Ausbeute des unter diesen Bedingungen gewonnenen, mit Alkaloidfällungsreagenzien stark positiv reagierenden Rohalkaloidbasengemisches sind in der folgenden Tabelle 2 aufgeführt

Im Anschluss an die Chloroformextraktion wurde das Drogenpulver noch mit 10 Liter Äther extrahiert, um auch solche alkaloidartige Stoffe zu erfassen, die in Chloroform schwer bzw. unlöslich sind. Der erhaltene Ätherextrakt wurde analog dem für obigen Chloroformextrakt gültigen Schema III aufgearbeitet. Hierbei resultierte jedoch keine wägbare Menge eines Rohalkaloidbasengemisches, sodass einer im Anschluss an die Chloroformextraktion vorzunehmenden Ätherextraktion keine weitere Bedeutung zukommt.

Zusammenstellung bisheriger Ergebnisse

Tab.2

a) Extraktion des Samenpulvers mit verdünnter Schwefelsäure

| eingesetzte<br>Drogenmenge<br>x) | Ausbeute an Rohalkaloïdbasengemisch |                     |                  |                       |                      |
|----------------------------------|-------------------------------------|---------------------|------------------|-----------------------|----------------------|
|                                  |                                     | bezogen auf         |                  |                       |                      |
|                                  |                                     | entfettete<br>Droge | Gesamt-<br>droge | fetthaltigen<br>Samen | entfetteten<br>Samen |
| 123 g                            | 9,877g                              | 9,27%               | 0,22%            | 0,45%                 | 9,71x                |

x) entfetteter Samen

b) Extraktion des Drogenpulvers mit  $\text{NH}_3$ -haltigem Chloroform

| eingesetzte<br>Drogenmenge<br>x) | Ausbeute an Rohalkaloïdbasengemisch |                     |                  |                       |                      |
|----------------------------------|-------------------------------------|---------------------|------------------|-----------------------|----------------------|
|                                  |                                     | bezogen auf         |                  |                       |                      |
|                                  |                                     | entfettete<br>Droge | Gesamt-<br>droge | fetthaltigen<br>Samen | entfetteten<br>Samen |
| 950 g                            | 6,8 g                               | 9,71 x              | 9,62 x           | 1,26 %                | 1,99 x               |
| 900 g                            | 5,4 g                               | 0,60 x              |                  |                       |                      |
| 950 g                            | 6,8 g                               | 9,71 x              |                  |                       |                      |
| 900 g                            | 6,5 g                               | 0,90 x              |                  |                       |                      |
| 850 g                            | 7,57 g                              | 9,89 x              |                  |                       |                      |
| 850 g                            | 7,6 g                               | 9,89 x              |                  |                       |                      |
| 850 g                            | 6,3 g                               | 0,74 x              |                  |                       |                      |

x) Um unmittelbare Vergleiche zwischen den Tabellen 2a und 2b ziehen zu können, wurden die in den Spalten "bezogen auf Gesamtdroge, fetthaltigen Samen, entfetteten Samen" angegebenen Werte aus dem den 7 Versuchen entsprechenden Mittelwert rechnerisch ermittelt unter Zugrundelegung der auf den Seiten 7 u. 8 gemachten Angaben über die Anteile der Droge an Perikarp, Samen und Samenöl.

### Diskussion der beiden Extraktionsmethoden

Die Extraktion des Drogenmaterials mit verdünnter Schwefelsäure besitzt offenbar einen gewissen Nachteil gegenüber der Extraktion mit Chloroform entsprechend den gemachten Angaben. Die Ausbeuten an Rohalkaloidbasengemisch sind, wie ein Vergleich ohne weiteres erkennen lässt, nach der Chloroformmethode wesentlich höher.

Extraktion mit verdünnter

Schwefelsäure : 0,22% (bezogen auf Gesamtdroge)

Extraktion mit ammoniak-

haltigem Chloroform : 0,62% (bezogen auf Gesamtdroge)

Es muss an dieser Stelle jedoch auch erwähnt werden, dass die anfangs in einem Multimix, später dagegen in einer Gewürzmühle vorgenommene Zerkleinerung der Droge zu Produkten unterschiedlicher Teilchengrösse führte. Für die Extraktion der Droge nach der Schwefelsäuremethode wurde ein noch ziemlich grobes Pulver eingesetzt, bei der nach der Chloroformmethode vorgenommenen Extraktion dagegen ein solches feinsten Beschaffenheit. Die Ursache für den wesentlich niedrigeren Gehalt an Rohalkaloidbasengemisch nach der Schwefelsäuremethode braucht deshalb nicht nur methodischer Art zu sein, sondern wird sicher bis zu einem gewissen Grad auch auf die jeweilige Teilchengrösse der bearbeiteten Droge zurückzuführen sein. Die Extraktion der Droge mit Chloroform entsprechend den gemachten Angaben bietet gegenüber der Schwefelsäuremethode auch einen rein technischen Vorzug, insofern, als hierbei keine derartig hartnäckigen Emulsionen auftreten (vgl. S. 11) und infolgedessen eine schnellere Isolierung des Rohalkaloidbasengemisches gewährleistet wird.



T E I L   I I

Eigenschaften der alkaloidhaltigen Fraktionen



Die in vorliegender Arbeit zum Nachweis von Alkaloiden oder alkaloidartigen Produkten verwendeten Fällungsreagenzien haben folgende Zusammensetzung und werden in der jeweils angegebenen Weise verwendet.

#### Dragendorff-S-Reagenz

8 g basisches Wismutnitrat werden in 20 ml 30%-iger Salpetersäure gelöst. Diese Lösung wird unter leichtem Umschütteln in eine konzentrierte, wässrige Lösung von 27 g Kaliumjodid gegeben, filtriert und die Lösung auf 100 ml aufgefüllt.

3 ml dieser Lösung werden unter fortwährendem Umschütteln zunächst zu einer Lösung von 2 g Kaliumjodid in Wasser gegeben, dann ebenfalls unter Umschütteln in kleineren Anteilen mit insgesamt 10 ml Wasser versetzt. Nach weiterer Zugabe von 10 Tropfen 25%-iger Salzsäure wird in kleineren Portionen und unter Umschütteln mit 15 ml Wasser verdünnt.

#### Verwendung :

Diese Reagenzlösung dient in vorliegender Arbeit zum Nachweis der oben erwähnten Stoffklassen in schwach saurer, wässriger Lösung.

#### Dragendorff Reagenz nach H.Thies und F.Reuther .

Das Reagenz wird entsprechend den von H.Thies u. F.Reuther (14) in der Literatur gemachten Angaben zubereitet.

#### Verwendung:

Das Reagenz wird zum Nachweis von Alkaloiden auf Papierchromatogrammen benutzt.

### Mayer's Reagenz

1,355 g Quecksilberchlorid und 5 g Kaliumjodid werden in 30 ml Wasser gelöst und die Lösung mit Wasser auf 100 ml ergänzt.

#### Verwendung:

Dieses Reagenz dient zum Nachweis von Alkaloiden und alkaloidartigen Substanzen in essigsaurer Lösung.

### Phosphormolybdänsäure Reagenz

1 g Phosphormolybdänsäure (p.a.Merck) werden mit 1 ml konzentrierter Salpetersäure versetzt und mit Wasser auf 100 ml ergänzt.

#### Verwendung:

Dieses Reagenz dient zum Nachweis von Alkaloiden und alkaloidartigen Substanzen in mineralsaurer Lösung.

### Phosphormolybdänsäure-Zinnchlorür-Reagenz

5 g Zinnchlorür werden mit 1 ml konzentrierter Salzsäure versetzt und mit Wasser auf 100 ml ergänzt. Diese Zinnchlorürlösung wird in Verbindung mit dem Phosphormolybdänsäurereagenz (s.S.21) verwendet:

Die auf Alkaloide bzw. alkaloidartige Substanzen zu prüfende Lösung wird auf einem Papierstreifen in Form kleiner Flecken aufgetragen und nach dem Trocknen mit Phosphormolybdänsäurereagenz besprüht. Der Papierstreifen wird durch Spülen mit Wasser von der überschüssigen Phosphormolybdänsäure befreit und nach vollständiger Lufttrocknung in die Zinnchlorürlösung eingetaucht. Eine positive Reaktion ist bei auftretender Blaufärbung der betreffenden Flecken gegeben.

### Tanninlösung

Die Zusammensetzung entspricht dem DAB 6.

### Verwendung:

Der Nachweis von mit Tannin fällbaren Produkten erfolgt in essigsauerm Medium.

### Pikrinsäurelösung

Herzustellen ist eine gesättigte, wässrige Pikrinsäurelösung.

### Verwendung:

Die Fällung von Alkaloiden bzw. alkaloidartigen Produkten gelingt mit diesem Reagenz in schwach essigsauerm oder neutralem Medium.

### Reineckesalzlösung

Verwendet wird eine gesättigte, wässrige Reineckesalzlösung.

### Verwendung

Sie dient zur Fällung von Alkaloiden in schwach essigsaurer, wässriger Lösung.

## A) Physikalisch-chemische Eigenschaften

### 1) Untersuchung der Fraktionen "Alkaloide A II" (Schema I, S.10) und "Rohalkaloidbasengemisch" (Schema III, S.15).

#### a) Verhalten gegenüber Alkaloidfällungsreagenzien

Eine kleine Probe der zu prüfenden Produkte wurde jeweils entsprechend den auf Seite 18 ff gemachten Angaben mit Alkaloidreagenzien geprüft. Die hierbei entstandenen Fällungen sind bezüglich ihrer Farbe in nachstehender Tabelle 3 zusammengestellt.

Tab.3

| Fraktion                 | Mayer's Reagenz | Dragon-dorff's Reagenz | Phosphor-wolfram-säure | Phosphor-molybdän-säure | Phosphor-molybdän-säure-Zinnchlorür Reagenz | Pikrin-säure | Gerb-säure | Reincke-salz |
|--------------------------|-----------------|------------------------|------------------------|-------------------------|---------------------------------------------|--------------|------------|--------------|
| Alkaloide A II           | Weiss           | rot-braun              | Weiss                  | gelblich                | starke Blaufärbung                          | gelb         | hellbraun  | rot          |
| Rohalkaloidbasen-gemisch | Weiss           | rot-braun              | Weiss                  | gelblich                | starke Blaufärbung                          | gelb         | hellbraun  | rot          |

Die hier beobachtete, für Alkaloide typische Fällbarkeit mit Alkaloidfällungsreagenzien steht in gutem Einklang mit dem jeweils positiven Ausgang der Lassaigne'schen Stickstoffprobe.

b) Verhalten im Tageslicht und UV-Licht

Die einzelnen Fraktionen wurden auf Papierstreifen aufgetragen und vor und nach dem Besprühen mit den angegebenen Alkaloidfällungsreagenzien im Tageslicht und UV-Licht betrachtet.

Tab. 4

| Fraktionen              | vor dem Besprühen |           | Dragendorff's Reagens |           | Mayer's Reagens |           | Phosphor-molybdänsäure |          |
|-------------------------|-------------------|-----------|-----------------------|-----------|-----------------|-----------|------------------------|----------|
|                         | Tages-Licht       | UV-Licht  | Tages-Licht           | UV-Licht  | Tages-Licht     | UV-Licht  | Tages-Licht            | UV-Licht |
| Alkaloide A II          | farblos           | hell-blau | orange-rot            | hell-blau | fast-farblos    | hell-blau | gelb-grün              | Lösung   |
| Rohalkaloidbasengemisch | farblos           | hell-blau | orange-rot            | hell-blau | fast-farblos    | hell-blau | gelb-grün              | Lösung   |

Beide Fraktionen zeigten also stets ein gleichartiges Verhalten.

c) Löslichkeit

Sowohl die Fraktion "Alkaloide A II" als auch die Fraktion "Rohalkaloidbasengemisch" sind leicht in Äthanol, Methanol und Chloroform, etwas schwerer dagegen in Äther löslich.

d) Optische Aktivität

Alkaloide A II :  $[\alpha]_D^{25} = -10,29^\circ$  (c=1,466; Methanol:Äther=1:1)

Rohalkaloid- :  $[\alpha]_D^{25} = -11,90^\circ$  (c=1,593; Methanol:Äther=1:1)

basengemisch :  $[\alpha]_D^{25} = -14,75^\circ$  (c=1,2; Äthanol)

" :  $[\alpha]_D^{25} = -13,30^\circ$  (c=2,4; Äthanol)

" :  $[\alpha]_D^{25} = -18,70^\circ$  (c=4; Chloroform)

" :  $[\alpha]_D^{25} = -18,30^\circ$  (c=1,2; Chloroform)

Die optische Aktivität der beiden Produkte weist nur unwesentliche Unterschiede auf, sodass wiederum ein Hinweis für eine weitgehende Ähnlichkeit dieser auf verschiedenem Weg gewonnenen Produkte gegeben ist.

Die spezifische Drehung des Rohalkaloidbasengemisches ist, wie die  $[\alpha]_D^{20}$ -Werte erkennen lassen, vom jeweils verwendeten Lösungsmittel abhängig, dagegen besteht praktisch keine Konzentrationsabhängigkeit.

Zusammenfassend kann bereits hier festgestellt werden, dass die Fraktionen "Alkaloide A II" und "Rohalkaloidbasengemisch" auf Grund ihres gleichartigen Verhaltens gegenüber Alkaloidfällungsreagenzien, ihrer übereinstimmenden Eigenschaften im UV-Licht und ihrer gleichsinnigen und sehr ähnlichen optischen Aktivitäten weitgehend identisch sein müssen.

## 2) Untersuchung der Fraktionen B I, B II, B III und B IV

### a) Verhalten gegenüber Alkaloidfällungsreagenzien

Die genannten Fraktionen (vgl. S. 12 u. 13) wurden analog den auf Seite 18 ff gemachten Angaben mit Alkaloidfällungsreagenzien geprüft; die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 5 zusammengestellt.

Tab. 5

| Fraktionen | Meyer's Reagent | Dragendorff's Reagent | Phosphorwolframsäure | Phosphor-molybdäinsäure | Picrin-säure | Tannin-Lösung | Reinecke-salz |
|------------|-----------------|-----------------------|----------------------|-------------------------|--------------|---------------|---------------|
| B I        | weiss           | rotbraun              | weiss                | gelblich                | gelb         | hellbraun     | rot           |
| B II       | weiss           | rotbraun              | weiss                | gelblich                | gelb         | hellbraun     | rot           |
| B III      | weiss           | rotbraun              | weiss                | gelblich                | gelb         | hellbraun     | rot           |
| B IV       | hellbraun       | rotbraun              | weiss                | braun                   | hellgelb     | hellbraun     | rot           |

Diese 4 Fraktionen reagierten also mit allen angegebenen Alkaloidfällungsreagenzien positiv. Auch der jeweils positive Ausgang der Stickstoffprobe steht mit der Fällbarkeit dieser Fraktionen in gutem Einklang. Trotzdem wurde erwogen, ob es sich bei diesen in den Fraktionen B I, B II, B III und B IV enthaltenen Substanzen

wegen der für Alkaloidbasen relativ ungewöhnlichen guten Wasserlöslichkeit nicht auch um andere mit Alkaloidfällungsreagenzien ebenfalls fällbare Naturstoffe handeln könnte.

Diese Vermutung wurde bei den Fraktionen B II und B III durch eine positive Ninhydrinprobe und eine positive Biuretreaktion bestätigt:

- a) 5 ml der jeweiligen Fraktion wurden genau neutralisiert, mit 0,5 ml einer 1%-igen Ninhydrinlösung versetzt und im Wasserbad erwärmt; nach 10 Minuten zeigte sich eine intensive Blaufärbung.
- b) Jeweils 2 ml einer Fraktion wurden mit Natronlauge stark alkalisch gemacht und in der Kälte mit einer 0,1%-igen Kupfersulfatlösung versetzt; nach kurzer Zeit entstand eine rotviolette Färbung.

Nachdem auch mit Gerbsäure- und mit Bleiacetatlösung in saurem Medium in den Fraktionen B II und B III Fällungen erzielt werden konnten, war bei ihnen zumindest die Anwesenheit von Eiweisskörpern eindeutig erwiesen. Um daneben auch das Vorhandensein von Aminosäuren feststellen oder ausschliessen zu können, wurden in diesen beiden Fraktionen mit Dragendorff's Reagenz in essigsauerm Medium die Eiweisskörper quantitativ ausgefällt und mit dem Filtrat in oben angegebener Weise die Ninhydrinprobe auf Aminosäuren durchgeführt. Die Reaktion war negativ. Auch die Anwesenheit von Purinkörpern konnte durch eine negative Murexidprobe ausgeschlossen werden.

In den Fraktionen B I und B IV waren dagegen weder Eiweisskörper noch Aminosäuren mit Hilfe der Biuretreaktion und der Ninhydrinprobe nachweisbar. Auch die Murexidprobe auf Purinkörper verlief negativ. Die Vermutung, dass eventuell in diesen Fraktionen vorhandene Ammonsalze mit Alkaloidfällungsreagenzien positiv reagieren könnten, wurde durch Blindversuche ebenfalls widerlegt. Dagegen blieb noch die Frage offen, ob es sich bei diesen stickstoffhaltigen Substanzen nicht etwa um betainartig gebaute Stoffe, oder auch um wasserlösliche Alkaloide handelt. Die Diskussion darüber wird an späterer Stelle (s.S.38 ff) wieder aufgenommen werden.

Zur weiteren Charakterisierung wurden im Folgenden die Fraktionen B I, B II, B III und B IV auf ihr Verhalten im

Tageslicht und im UV-Licht vor und nach dem Besprühen mit Alkaloidfällungsreagenzien untersucht.

b) Verhalten im Tageslicht und UV-Licht

Die einzelnen Fraktionen wurden auf Papierstreifen aufgetragen und vor und nach dem Besprühen mit den angeführten Alkaloidfällungsreagenzien im Tageslicht und UV-Licht betrachtet.

Tab.6

| Fraktionen | vor dem Besprühen |            | Dragendorff's Reagent |            | Mayer's Reagent |             | Phosphor-molybd.-säure |                 |
|------------|-------------------|------------|-----------------------|------------|-----------------|-------------|------------------------|-----------------|
|            | Tages-Licht       | UV-Licht   | Tages-Licht           | UV-Licht   | Tages-Licht     | UV-Licht    | Tages-Licht            | UV-Licht        |
| B I        | farblos           | Lösung     | violett-rot           | Lösung     | —               | —           | farblos                | schwache Lösung |
| B II       | schwach braun     | Lösung     | schwach orange-braun  | Lösung     | schwach-braun   | —           | bräunlich              | schwache Lösung |
| B III      | braun             | fast weiss | orange-braun          | Lösung     | hell-braun      | rötlich     | braun                  | Lösung          |
| B IV       | braun             | fast weiss | orange-braun          | fast weiss | hell-braun      | schwach rot | hell-braun             | Lösung          |

Das Verhalten dieser 4 Fraktionen gegenüber Alkaloidfällungsreagenzien liess weder im Tageslicht noch im UV-Licht eine differenzierte Charakterisierung zu.

Die aufgetretenen Farbnuancen in der Fluoreszenz und die feinen Unterschiede in der Lösung, die bei den einzelnen Fraktionen vor und nach dem Besprühen mit Alkaloidfällungsreagenzien im Tageslicht und im UV-Licht sichtbar wurden, sind wohl in der Hauptsache auf irgendwelche aus der Droge stammende Ballaststoffe zurückzuführen.

Nachdem aber die Löslichkeit der einzelnen Fraktionen in Alkohol und Wasser verschieden ist (vgl. S.13) und in den Fraktionen B II und B III eindeutig Eiweisskörper nachgewiesen

werden konnten, nicht dagegen in den Fraktionen B I und B IV, handelt es sich offenbar nicht etwa um eine Fraktionierung von Eiweisskörpern sondern um eine Trennung von Substanzen, die verschiedenen Stoffklassen angehören.  
Eine eingehende Charakterisierung der in den Fraktionen B II und B III vorhandenen Eiweisskörper unterblieb in dieser Arbeit. In ergänzenden Versuchen sollte nur noch festgestellt werden, ob neben diesen Eiweisskörpern auch andere Substanzen nachgewiesen werden können. Ebenso wurde an späterer Stelle (s.S.38 ff) versucht, neue Kriterien für die noch unbekannten Substanzen der Fraktionen B I und B IV zu finden, um vielleicht gewisse Aussagen über ihre Natur machen zu können.

#### B) Papierchromatographische Untersuchungen

Für die nachfolgenden Arbeiten wurde sowohl die Methode der aufsteigenden und absteigenden Papierchromatographie als auch die Rundfiltermethode herangezogen. Nähere Angaben über die Versuchsbedingungen sind jeweils den Versuchen kurz vorangestellt.

#### a) Papierchromatographische Untersuchungen der Fraktionen "Alkaloide A II" und "Rohalkaloidbasengemisch"

Ergänzend sei noch einmal erwähnt, dass es sich bei der Fraktion "Alkaloide A II" (vgl.S.10) um die nach der Schwefelsäuremethode gewonnenen, bei der Fraktion "Rohalkaloidbasengemisch" (vgl.S.15) dagegen um die nach der Chloroformmethode gewonnenen Alkaloide handelt.

##### 1) Lösungsmittelgemisch: n-Butanol:Eisessig:Wasser=4:1:5

Methode: aufsteigende Methode

Dampfsättigung: 15 Stunden

Laufzeit: 14 Stunden

Papiersorte: Schleicher & Schüll Nr. 2043 a

Temperatur während der Laufzeit: 19°-21°

Sprühareagenz: Dragendorff's Reagenz

Tab.7

| Fraktionen                  | Eigenschaften                      |                                    |                                      |
|-----------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| Alkaloide<br>A I            | 0,44<br>negativ<br>orange + rot    | 0,57<br>blau<br>orange - rot<br>++ | 0,71<br>negativ<br>orange - rot<br>o |
| Rohalkaloid<br>basengemisch | 0,44<br>negativ<br>orange-rot<br>+ | 0,57<br>blau<br>orange - rot<br>++ | 0,71<br>negativ<br>orange-rot<br>o   |
| Scopolamin                  | —                                  | 0,56<br>negativ<br>orange-rot      | —                                    |
| Atropin                     | —                                  | —                                  | 0,68<br>negativ<br>orange-rot        |

Die in der Tabelle zusammengestellten Ergebnisse entsprechen in der Reihenfolge jeweils dem  $R_f$ -Wert, dem UV-Fluoreszenzlicht, der Dragendorff-Färbung und der relativen Fleckengrösse.

Die in der Tabelle verwendeten Zeichen (+, o) sollen die relative Grösse der einzelnen Alkaloidflecke im Papierchromatogramm zum Ausdruck bringen und Aussagen über die in einer Fraktion jeweils ungefähr enthaltenen Alkaloidmengen zulassen. Dabei bedeutet mengenmässig: o: sehr wenig, +: wenig und ++: viel.

Dieser papierchromatographische Versuch liess die Trennung der geprüften Fraktionen in 3 voneinander verschiedene Substanzen erkennen und zeigt gleichzeitig, dass unabhängig von der jeweiligen Gewinnungsmethode gleiche Rohprodukte erhalten werden. Wie ein weiterer Vergleich dieser Alkaloidfraktionen mit bekannten Alkaloiden z.B. Scopolamin und Atropin ergab, kann schon auf Grund dieses Versuches mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit angenommen werden, dass zumindest zwei von den drei in den betreffenden Fraktionen enthaltenen Alkaloide bekannt sind, nämlich Scopolamin und Atropin. Jenes dritte, noch nicht identifizierbare Alkaloid wird im

Folgenden Alkaloid I genannt.

Um diesen Befund zu erhärten, wurden zusätzlich papierchromatographische Versuche angestellt, jedoch mit veränderten Lösungsmittelsystemen.

- 2) Lösungsmittelgemisch: n-Butanol:Chloroform:konz. Salzsäure:Wasser = 1:1:2:2

Methode: aufsteigende Methode

Papiersorte: Schleicher & Schüll Nr. 2043 a

Dampfsättigung: 15 Stunden

Laufzeit: 15 Stunden

Temperatur während der Laufzeit: 19°-21°

Sprühreagenz: Dragendorff's Reagenz

Tab.8

| Fraktionen                       | Eigenschaften x)                  |                                 |                                   |
|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| Alkaloide<br>A <sub>1</sub>      | 0,32<br>negativ<br>orangerot<br>+ | 0,48<br>blau<br>orangerot<br>++ | 0,90<br>negativ<br>orangerot<br>o |
| Rohalkaloid<br>basen-<br>gemisch | 0,32<br>negativ<br>orangerot<br>+ | 0,48<br>blau<br>orangerot<br>++ | 0,90<br>negativ<br>orangerot<br>o |
| Scopolamin                       | —                                 | 0,47<br>negativ<br>orangerot    | —                                 |
| Atropin                          | —                                 | —                               | 0,90<br>negativ<br>orangerot      |

x) vgl. Erläuterungen zur Tabelle 7

- 3) Lösungsmittelgemisch: Isopropylalkohol:Eisessig : Wasser = 8:1:1

Methode: aufsteigende Methode

Papiersorte: Ederol Nr. 207

Dampfsättigung: 14 Stunden

Laufzeit: 24 Stunden

Temperatur während der Laufzeit: 12°-13°

Tab.9

| Fraktionen                   | Rf- Werte |      |      |
|------------------------------|-----------|------|------|
| Alkaloide A $\bar{I}$        | 0,61      | 0,78 | 0,91 |
| Rotalkaloïd-<br>basengemisch | 0,61      | 0,78 | 0,91 |
| Scopolamin                   | —         | 0,78 | —    |
| Atropin                      | —         | —    | 0,92 |

- 4) Lösungsmittelgemisch: Isopropylalkohol:Eisessig:  
:Wasser = 8:1:0,1

Methode: aufsteigende Methode

Papiersorte: Ederol Nr.207

Dampfsättigung: 18 Stunden

Laufzeit: 28 Stunden

Temperatur während der Laufzeit: 12°-14°

Tab.10

| Fraktionen                   | Rf- Werte |      |      |
|------------------------------|-----------|------|------|
| Alkaloide A $\bar{I}$        | 0,46      | 0,65 | 0,82 |
| Rotalkaloïd-<br>basengemisch | 0,46      | 0,65 | 0,82 |
| Scopolamin                   | —         | 0,61 | —    |
| Atropin                      | —         | —    | 0,82 |

- 5) Lösungsmittelgemisch: Isopropylalkohol:Ameisensäure:  
:Wasser = 8:1:1

Methode: aufsteigende Methode

Papiersorte: Ederol Nr.207

Dampfsättigung: 17 Stunden

Laufzeit: 33 Stunden

Temperatur während der Laufzeit: 12°-14°

Tab.11

| Fraktionen                   | Rf- Werte |      |      |
|------------------------------|-----------|------|------|
| Alkaloide A $\bar{I}$        | 0,68      | 0,80 | 0,90 |
| Rohalkaloid-<br>basengemisch | 0,68      | 0,80 | 0,90 |
| Scopolamin                   | —         | 0,80 | —    |
| Atropin                      | —         | —    | 0,90 |

Die vorliegenden papierchromatographischen Versuche lassen zunächst einmal erkennen, dass das nach der Schwefelsäuremethode gewonnene Produkt "Alkaloide A II" zumindest qualitativ und annähernd auch quantitativ die gleiche Zusammensetzung hat wie das nach der Chloroformmethode gewonnene "Rohalkaloidbasengemisch". Die beiden Methoden führten demnach trotz der recht unterschiedlichen Behandlung der Droge und damit der darin enthaltenen Alkaloide qualitativ zum gleichen Ergebnis.

In dieser Arbeit wird deshalb wegen der technisch leichteren Arbeitsweise im Folgenden nur noch das nach der Chloroformmethode gewonnene Rohalkaloidbasengemisch zur Bearbeitung herangezogen.

Auf Grund eines Vergleiches der Fleckengrößen ergibt sich, dass im Rohalkaloidbasengemisch nur sehr wenig Atropin enthalten ist und Scopolamin das Hauptalkaloid darstellt. Scopolamin dürfte entsprechend seiner Fleckengröße rund 80 % des Rohalkaloidbasengemisches ausmachen und stellt somit das Hauptalkaloid der DATURA PITTIERI (Safford) dar; Für Alkaloid I ergibt sich infolge seiner wesentlich geringeren Fleckengröße ein Gehalt von rund 15-20 %.

In dem folgenden Versuch wird das Rohalkaloidbasengemisch nun noch mit den zur Verfügung stehenden bekannten Solanaceenalkaloiden Meteloidin, Valeroidin, Apoatropin und Homatropin papierchromatographisch verglichen, um auf diese Weise entweder die Identität des Alkaloid I mit einem bereits bekannten Alkaloid nachweisen, oder das Vorhandensein eines dann nach wie vor unbekannten Alkaloids weiter erhärten zu können.

Lösungsmittelgemisch: n-Butanol:Eisessig:Wasser=4:1:5

Methode: absteigende Methode

Papiersorte: Ederol Nr.207

Dampfsättigung: 17 Stunden

Laufzeit: 48 Stunden

Temperatur während der Laufzeit: 12°-13°

Tab.12

| Fraktionen               | Rf - Werte |     |      |      |      |      |     |
|--------------------------|------------|-----|------|------|------|------|-----|
| Rohalkaloid-basengemisch | 0,47       | 0,6 | —    | —    | —    | 0,75 | —   |
| Scopolamin               | —          | 0,6 | —    | —    | —    | —    | —   |
| Atropin                  | —          | —   | —    | —    | —    | 0,75 | —   |
| Apoatropin               | —          | —   | —    | —    | —    | —    | 0,8 |
| Meteloidin               | —          | —   | 0,64 | —    | —    | —    | —   |
| Valeroidin               | —          | —   | —    | —    | 0,72 | —    | —   |
| Homatropin               | —          | —   | —    | 0,67 | —    | —    | —   |

Dieser Versuch ergab eindeutig, dass das Alkaloid I auch mit den bereits oben genannten Alkaloiden nicht identisch sein kann.- Somit war es sehr unwahrscheinlich geworden, dass es sich bei dem Alkaloid I um ein in D a t u r a - Arten vorkommendes, bereits bekanntes Alkaloid handelt. Um trotzdem mit Sicherheit eine mögliche Identität von Alkaloid I mit anderen in D a t u r a - Arten nachgewiesenen, in ihrer Struktur jedoch noch nicht aufgeklärten Solanaceenalkaloiden aus-

zuschliessen, wurden einige diesbezügliche Literaturangaben in entsprechender Weise nachgearbeitet.

In der Literatur wird von zwei neuen, Alkaloid A und B genannten Solanaceenalkaloiden berichtet, die von R.E.A. Drey und G.E. Foster (8) in der *Datura sanguinea* gefunden und papierchromatographisch mit einer Reihe von Solanaceenalkaloiden verglichen worden waren. Um die Identität von Alkaloid I mit den in der *Datura sanguinea* vorkommenden Alkaloiden A und B feststellen oder ausschliessen zu können, wurden in Analogie zu den Drey - Foster'schen Versuchsan-  
gaben papierchromatographisch Versuche angestellt.

Whatman-Papier Nr.1 wurde mit einem Sörensen-Phosphat-Puffer vom  $p_H$  7,4 (3,8 g  $Na_2HPO_4$  + 0,9 g  $KH_2PO_4$  ad 500 ml aqua dest.) getränkt und an der Luft hängend getrocknet.

Lösungsmittelgemisch: wassergesättigtes n-Butanol

Methode: absteigende Methode

Papiersorte: Whatman-Papier Nr.1

Dampfsättigung: 25 Stunden

Laufzeit: 19 Stunden

Temperatur während der Laufzeit:  $11^{\circ}$ - $12^{\circ}$

Tab.13

| Rf-Werte von Drey - Foster |        | Rf-Werte (gef.) |        |
|----------------------------|--------|-----------------|--------|
| Tröpin                     | : 0,15 |                 |        |
| Oscin                      | : 0,19 |                 |        |
| unbek. Alkaloid A          | : 0,33 |                 |        |
| unbek. Alkaloid B          | : 0,49 |                 |        |
| Norhyoscyamin              | : 0,59 |                 |        |
| Pseudo-hyoscyamin          | : 0,61 |                 |        |
| Hyoscyamin                 | : 0,61 |                 |        |
| Atropin                    | : 0,61 | Atropin         | : 0,50 |
|                            |        | Alkaloid I      | : 0,55 |
| Valeroidin                 | : 0,70 | Valeroidin      | : 0,59 |
| Meteloidin                 | : 0,71 |                 |        |
| Scopolamin                 | : 0,84 | Scopolamin      | : 0,62 |
| Tigloidin                  | : 0,84 |                 |        |
| Nikotin                    | : 0,84 |                 |        |

In der Arbeit von R.E.A. D r e y und G.E.

F o s t e r finden sich leider keine vollständigen Angaben bezüglich der papierchromatographischen Versuchsbedingungen; infolgedessen lassen die dort erzielten Ergebnisse einen unmittelbaren Vergleich mit denen eigener Versuche nur bis zu einem gewissen Grad zu.

Die in vorliegendem Versuch gefundenen  $R_F$ -Werte unterscheiden sich zwar von den von D r e y - F o s t e r gemachten Angaben, jedoch die Reihenfolge im Papierchromatogramm der zum Vergleich herangezogenen Alkaloide ist die gleiche. Ein Vergleich dieser Versuche miteinander erscheint wegen dieser Parallelität deshalb doch angebracht zu sein.

Alkaloid I kann demnach mit den Alkaloiden A und B nicht identisch sein, da einerseits der  $R_F$ -Wert von Alkaloid I zwischen denen von Valeroidin und Atropin liegt und zum anderen die  $R_F$ -Werte der Alkaloide A und B einem  $R_F$ -Bereich entsprechen, der einwandfrei den Unterschied zwischen Alkaloid I und jenen beiden Alkaloiden deutlich werden lässt.

Dieser papierchromatographische Vergleich mag ausserdem auch bis zu einem gewissen Grad als Hinweis dienen, dass Alkaloid I sehr wahrscheinlich auch mit den übrigen, in jener Arbeit aufgeführten Vergleichssubstanzen - und zwar solchen, deren  $R_F$ -Wert ausserhalb des bereits oben genannten Valeroidin-Atropin-Bereiches liegt, also Tropin, Oscin, Norhyoscin, Noratropin, Scopolamin, Tigloidin und Nikotin - nicht identisch sein wird.

Interessant ist die Tatsache, dass D r e y - F o s t e r bei ihren Versuchen Nikotin als Vergleichssubstanz herangezogen haben, ein Alkaloid, dessen Vorkommen gewöhnlich in D a t u r a - Arten nicht zu erwarten ist. Auch andere Autoren (15) weisen in der Literatur darauf hin, dass Nikotin ausser in Nicotiana-Arten auch in anderen Solanaceenpflanzen, wenn auch sehr selten, vorkommen soll. Wenngleich eine Identität von Alkaloid I mit Nikotin sehr unwahrscheinlich erschien, wurden diesbezüglich trotzdem papierchromatographische Versuche angestellt, um diese Frage mit Sicherheit abklären zu können.

- 1) Lösungsmittelgemisch: n-Butanol:Eisessig:Wasser=4:1:5  
Methode: aufsteigende Methode  
Papiersorte: Schleicher & Schüll Nr.2043 a  
Dampfsättigung: 18 Stunden  
Laufzeit: 25 Stunden  
Temperatur während der Laufzeit: 13°-14°

Tab.14

| Fraktionen                   | R <sub>f</sub> -Werte |      |      |
|------------------------------|-----------------------|------|------|
| Rohalkaloid-<br>basengemisch | 0,49                  | 0,61 | 0,77 |
| Nikotin                      | 0,50                  | —    | —    |
| Scopolamin                   | —                     | 0,61 | —    |
| Atropin                      | —                     | —    | 0,77 |

Die nahezu gleichen R<sub>f</sub>-Werte von Nikotin (0,50) und Alkaloid I (0,49) schlossen eine Identität bei dem verwendeten Lösungsmittelsystem allerdings nicht aus. Es wurde deshalb mit geändertem Lösungsmittelsystem der Versuch wiederholt.

- 2) Lösungsmittelgemisch: Chloroform:Eisessig:Wasser=4:1:5  
Methode: Rundfiltermethode  
Papiersorte: Schleicher & Schüll Nr 2043 a  
Dampfsättigung: 15 Stunden  
Laufzeit: 4 Stunden  
Temperatur während der Laufzeit: 12°-13°

Tab.15

| Fraktionen                   | R <sub>f</sub> -Werte |      |      |      |
|------------------------------|-----------------------|------|------|------|
| Rohalkaloid-<br>basengemisch | 0,47                  | 0,64 | —    | 0,75 |
| Nikotin                      | —                     | —    | 0,70 | —    |
| Scopolamin                   | —                     | 0,63 | —    | —    |
| Atropin                      | —                     | —    | —    | 0,75 |

Die Tatsache, dass unter veränderten Bedingungen die  $R_f$ -Werte von Nikotin und Alkaloid I verschieden sind, beweist, dass die beiden nicht identisch sein können. Auch ein später vorgenommener Mischschmelzpunkt der entsprechenden Pikrate ergab eine Depression und bestätigte somit die Verschiedenheit von Alkaloid I und Nikotin.

Papierchromatographische Untersuchung des aus dem Blätterextrakt von DATURA PITTIERI (Safford) gewonnenen Rohalkaloidbasengemisches

Die getrockneten Blätter von DATURA PITTIERI (Safford) (vgl.S.6) wurden analog der auf Seite 13 geschilderten Chloroformmethode extrahiert und aus dem Extrakt entsprechend dem Schema III (vgl.S.15) ein Rohalkaloidbasengemisch gewonnen. Die Ausbeute betrug 0,54 %. Dieses so gewonnene Rohalkaloidbasengemisch war papierchromatographisch (Versuchsbedingungen vgl.S.26) in seiner qualitativen Zusammensetzung mit dem aus dem Fruchtmaterial gewonnenen Produkt identisch; der Alkaloid I-Anteil in dem aus den Blättern isolierten Rohalkaloidbasengemisch lag allerdings nur bei etwa 10 % (vgl.S.30).

b) Papierchromatographische Untersuchungen der Fraktionen B I, B II, B III und B IV (vgl.S.12 bzw.S.26)

Lösungsmittelgemisch: n-Butanol:Eisessig:Wasser=4:1:5

Methode: absteigende Methode

Papiersorte: Schleicher & Schüll Nr.2043 a

Dampfsättigung: 15 Stunden

Laufzeit: 14 Stunden

Temperatur während der Laufzeit: 19°-21°

Papierchromatographisch konnten die Substanzen dieser 4 Fraktionen nicht näher charakterisiert werden, da

sie bei Verwendung des angegebenen Lösungsmittelsystems überhaupt nicht, oder nur sehr langsam wanderten. Von der Wieder-  
gabe der  $R_F$ -Werte, die grössenordnungsmässig zwischen 0 und  
0,1 lagen, wird abgesehen, da diese keinerlei Rückschlüsse zu-  
lassen.

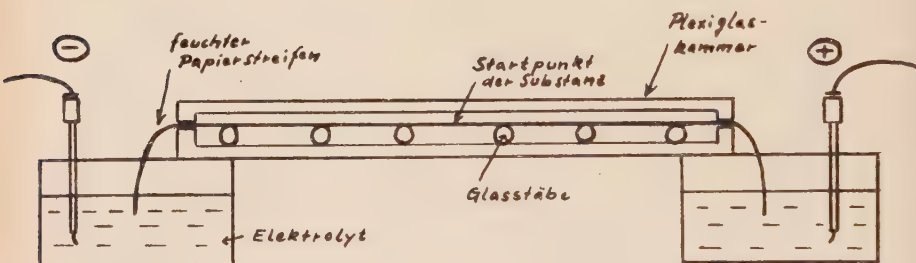
Sehr langsam wandernde Substanzen können häufig dann papier-  
chromatographiert werden, wenn man nach dem Durchlaufprinzip  
arbeitet und Bezugssubstanzen von ähnlicher Beschaffenheit  
mitlaufen lässt. Im vorliegenden Fall waren jedoch, mit Aus-  
nahme der Eiweisskörper, keinerlei Anhaltspunkte über die  
Natur der in diesen Fraktionen vorhandenen, alkaloidartig sich  
verhaltenden Produkte gegeben. Daher war auch eine sinnvolle  
Wahl einer geeigneten Bezugssubstanz nicht möglich. Wenn nun  
trotzdem ohne Bezugssubstanz gearbeitet wurde, so deshalb, um  
vielleicht auf diese Weise wenigstens Unterschiede zwischen  
den einzelnen Fraktionen herauszuarbeiten.

In einem 96-stündigen Durchlaufchromatogramm waren die in den  
Fraktionen enthaltenen alkaloidartigen Produkte auch tatsäch-  
lich gewandert. Eine Trennung der jeweiligen Fraktionen in  
mehrere Komponenten war dabei nicht aufgetreten; ausserdem  
waren nur sehr geringe Unterschiede in den absoluten Wander-  
strecken zwischen den einzelnen Fraktionen feststellbar.  
Das Auffinden eines geeigneten Lösungsmittelsystems zur ein-  
deutigen Charakterisierung dieser alkaloidartigen Produkte  
schien weniger erfolgversprechend zu sein, als beispielsweise  
eine Trennung bzw. Unterscheidung mit Hilfe der Papierelek-  
trophorese.

Aus diesem Grunde wurden die papierchromatographischen Ver-  
suche hier nicht weiter ausgedehnt, da die in dieser Richtung  
bereits unternommenen Versuche nur eine geringe Hoffnung auf  
Erfolg erkennen liessen.

### C) Papierelektrophoretische Untersuchungen

Die Versuchsanordnung für die papierelektrophoretischen Versuche sei durch nachstehende Skizze kurz aufgezeigt



In der Mitte eines Papierstreifens (Schleicher & Schüll Nr.2043 a) vom Format 2,5 x 55 cm wurde jeweils eine kleine Menge der zu untersuchenden Fraktion mit einer Mikropipette strichförmig aufgetragen. Nach dem Eintrocknen wurde der ganze Streifen mit der jeweils angegebenen Elektrolytflüssigkeit durchtränkt und nach kurzem Abpressen zwischen Fließkarton in die Elektrophorese-Glaskammer eingelegt. Die beiden Enden des Papierstreifens tauchten in eine mit Pufferlösung gefüllte Glaswanne ein, die mit der Anode und Kathode in Verbindung stand. Als Stromquelle wurde ein selbstgebauter Gleichrichter verwendet, der den vom Netz entnommenen Wechselstrom in einen weitgehend geglätteten Gleichstrom überführte.

Im Primärkreis befand sich noch ein Schiebewiderstand, um gegebenenfalls die Klemmspannung variieren zu können. Die Elektrophoresekammer war so dimensioniert, dass 4 Papierstreifen von dem angegebenen Format darin Platz finden konnten. Infolgedessen konnten entweder 4 verschiedene Fraktionen unter gleichen Bedingungen miteinander verglichen werden oder eine bestimmte Fraktion auf ihr elektrophoretisches Verhalten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer geprüft werden. Beim Anlegen einer Klemmspannung von 600 Volt wurde dann je nach der verwendeten Elektrolytflüssigkeit und Versuchsdauer eine Stromstärke von 0,2-10 mA gemessen. Es wurde die Beobachtung gemacht, dass bei Beginn eines Versuches die Stromstärke zunächst langsam anstieg und später infolge eines gewissen Verdunstungseffektes wieder abnahm. Nach Beendigung eines Versuches - die Versuchsdauer bewegte sich meist zwischen 2 und 5 Stunden - wurden die Papierstreifen aus der Kammer genommen, in waagrechter Lage an der Luft getrocknet und nach dem Betrachten im UV-Licht mit Dragendorff's Reagenz besprüht.

#### Papierelektrophoretische Untersuchung der Fraktion B I

- 1) In 10%iger Pyridinlösung ( $p_H$  8,6) wanderte während einer Versuchsdauer von 2 Stunden eine Substanz kathodisch, die sich beim Besprühen mit Dragendorff's Reagenz gelb anfärben liess.



Zone 1 : UV-negativ

: Dragendorff-positiv: gelbe Färbung;

- 2) In 10%iger Essigsäure ( $p_H$  2,05) wanderte während einer Versuchsdauer von 1 Stunde eine mit Dragendorff's Reagenz gelb anfärbbare Zone ebenfalls zur Kathode; daneben zeigte sich auf der Anodenseite noch eine rötlich-braun gefärbte Zone.



- Zone 1 : UV-negativ;  
: Dragendorff-positiv: Gelbfärbung;  
Zone 2 : UV-negativ;  
: Dragendorff-positiv: rötlich-braune Färbung;

Diese mit Dragendorff's Reagenz in jedem Fall gelb anfärbbare Zone könnte auf Grund ihres elektrophoretischen Verhaltens einer quartären alkaloidartigen Komponente entsprechen, da sie bei einem  $p_H \leq 7$  stets zur Kathode wandert. Die im sauren Medium anodisch wandernde Substanz kann noch keinem bestimmten Verbindungstyp zugeordnet werden.

#### Papierelektrophoretische Untersuchung der Fraktion B II

- 1) Nach 1 1/2-stündiger Laufzeit war in 10%igem Pyridin ( $p_H$  8,6) die aufgetragene Substanz praktisch am Startpunkt stehengeblieben; sie färbte sich beim Besprühen mit Dragendorff's Reagenz orange-gelb.



- Zone 1 : UV-positiv: hellblaue Fluoreszenz;  
: Dragendorff-positiv: orange-gelbe Färbung;  
: Ninhydrin-positiv;

- 2) In 10%iger Essigsäure ( $p_H$  2,05) zeigte sich nach 1-stündiger Laufzeit beim Betrachten des Papierstreifens im UV-Licht auf der Kathodenseite eine intensiv blau

fluoreszierende Zone. Nach dem Besprühen mit Dragendorff's Reagenz wurde daneben eine sich orange-gelbfärbende Zone sichtbar, die ebenfalls in Richtung zur Kathode gewandert war.



Zone 1 : UV-positiv: stark blaue Fluoreszenz;  
: Dragendorff-negativ;

Zone 2 : UV-negativ;  
: Dragendorff-positiv: orange-gelbe Färbung;  
: Ninhydrin-positiv;

Nachdem in Vorversuchen (vgl.S.24) qualitativ bereits der Nachweis für Eiweisskörper in Fraktion B II erbracht worden war, ergibt sich aus dem elektrophoretischen Verhalten dieser Fraktion in saurem und basischem Medium, dass diese Eiweissfraktion den schwach basischen Eiweissstoffen zuzuordnen ist, deren isoelektrischer Punkt bei einem  $p_H \sim 8,6$  liegt. Nur unter dieser Voraussetzung ist es zu verstehen, wenn bei Verwendung der sauren Elektrolytflüssigkeit eine Wanderung zur Kathode erfolgt, bei Verwendung jener schwach basischen Elektrolytflüssigkeit dagegen keine elektrophoretische Wanderung zu beobachten ist. Bei Verwendung des sauren Elektrolyten konnte eine im UV-Licht blau fluoreszierende Zone festgelegt werden, die ebenfalls basischer Natur sein muss. Eiweissstoffe besitzen im allgemeinen keine fluoreszierenden Eigenschaften, bei Alkaloiden dagegen kann häufig ein solches Verhalten beobachtet werden. Es ist deshalb nicht ausgeschlossen, dass es sich bei dieser im UV-Licht blau fluoreszierenden Zone um ein Alkaloid handelt, dessen Nachweis mit den üblichen Alkaloidfällungsreagenzien infolge zu geringer Konzentration nur noch nicht gelingt.

Papierelektrophoretische Untersuchung der Fraktion B III

- 1) In 10%iger Pyridinlösung ( $p_H$  8,6) war nach einer Laufzeit von 2 Stunden auf der Kathodenseite eine Trennung in 3 Zonen eingetreten, von denen die Zone 3 am weitesten gewandert war und nur durch ihr intensiv blaues Fluoreszenzlicht nachgewiesen werden konnte. Ebenso konnte die Zone 2 nur im UV-Licht als solche durch ihre blaue Fluoreszenz erkannt werden, da sie sich mit Dragendorff's Reagenz nicht anfärben liess. Allein die Zone 1 war Dragendorff-positiv.



- Zone 1: UV-negativ;  
: Dragendorff-positiv: braune Färbung;  
: Ninhydrin-positiv;  
Zone 2: UV-positiv: stark blaue Fluoreszenz;  
: Dragendorff-negativ;  
: Ninhydrin-negativ;  
Zone 3: UV-positiv: stark blaue Fluoreszenz;  
: Dragendorff-negativ;  
: Ninhydrin-negativ;

- 2) In 10%iger Essigsäure ( $p_H$  2,05) ergab sich nach einer Laufzeit von 2 Stunden die Ausbildung nur einer Zone auf der Kathodenseite, die im UV-Licht eine stark hellblaue Fluoreszenz zeigte und sich beim Besprühen mit Dragendorff's Reagenz braun färbte.



- Zone 1: UV-positiv: stark hellblaue Fluoreszenz;  
: Dragendorff-positiv: braune Färbung;  
: Ninhydrin-positiv;

Qualitativ war bereits nachgewiesen worden (vgl. S. 24), dass Fraktion B III eiweisshaltig ist. Auf Grund der papierelektrophoretischen Untersuchung in saurem und schwach basischem Milieu ergibt sich, dass diese Eiweissfraktion zum Unterschied von Fraktion B II zu den stärker basischen Eiweissstoffen zu zählen ist, deren isoelektrischer

Punkt bei einem  $p_H > 8,6$  liegt. Wenn bei Verwendung einer sauren oder schwach basischen Elektrolytflüssigkeit stets eine Wanderung der Eiweissfraktion zur Kathode hin erfolgt, muss diese in einer kationigen Form vorliegen. Dies ist auch tatsächlich immer dann zutreffend, wenn der  $p_H$ -Wert der Elektrolytflüssigkeit kleiner ist als derjenige, der dem isoelektrischen Punkt der Eiweissverbindung entspricht. Im vorliegenden Fall muss also der isoelektrische Punkt dieser Eiweissfraktion bei einem  $p_H > 8,6$  liegen, denn wäre er kleiner, dann dürfte nur bei Verwendung der sauren Elektrolytflüssigkeit (10%ige Essigsäure) eine Wanderung zur Kathode hin erfolgen.

Bei Verwendung der basischen Elektrolytflüssigkeit waren auf dem Pherogramm ausserdem noch zwei im UV-Licht kräftig blau fluoreszierende Zonen zu erkennen, für die ähnliche Überlegungen zutreffen dürften wie sie bei der in der Fraktion B II enthaltenen, im UV-Licht ebenfalls blau fluoreszierenden Komponente angestellt wurden (vgl. S. 40). Da die in der Fraktion B III enthaltenen, im UV-Licht blau fluoreszierenden Komponenten auch bei Verwendung einer schwach sauren Elektrolytflüssigkeit eine Wanderung zur Kathode erkennen lassen, ist für den Fall, dass es sich hierbei um Alkaloide handelt, eine quartäre Struktur anzunehmen.

#### Papierelektrophoretische Untersuchung der Fraktion B IV

Die Fraktion B IV wurde ebenfalls unter Verwendung von 10%igem Pyridin oder 10%iger Essigsäure elektropheriert. Dabei kam es in jedem Fall nur zu einer geringen Verschiebung der an der Startlinie aufgetragenen, mit Dragendorff's Reagenz anfärbbaren Fraktion B IV, sodass es zweifelhaft erscheinen muss, ob es sich dabei wirklich um eine elektrophoretische Beweglichkeit handelt. Immerhin kann diese geringe Verschiebung auch einem passiven Transport infolge von Verdunstungseffekten und der damit verbundenen Flüssigkeitsströmung innerhalb eines Papierstreifens zugeschrieben

werden. Da die in der Fraktion B IV enthaltenen, stickstoffhaltigen und mit Dragendorff's Reagenz fällbaren Substanzen elektrophoretisch praktisch keine Beweglichkeit erkennen lassen, könnte es sich bei diesen möglicherweise um solche äusserst geringer Basizität handeln, bei denen eine Salzbildung unterbleibt und damit auch die eines elektrophoretisch wandernden Kations.

Die Ergebnisse der papierelektrophoretischen Untersuchungen von Fraktion B I, B II, B III und B IV seien noch einmal in der Tabelle 16 wiedergegeben, um auf diese Weise den Unterschied zwischen den einzelnen Fraktionen besonders deutlich werden zu lassen.

Tab.16

| Fraktionen | bei       | Wanderung zur               |                           | Stoff-Klassen<br>Typ                                                                                 |
|------------|-----------|-----------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |           | Kathode<br>Anzahl der Zonen | Anode<br>Anzahl der Zonen |                                                                                                      |
| $B_I$      | $pH 2,05$ | 1                           | 1                         | quartäre<br>Stickstoffverbindung                                                                     |
|            | $pH 8,6$  | 1                           | —                         |                                                                                                      |
| $B_{II}$   | $pH 2,05$ | 2                           | —                         | schwach basische<br>Eiweissverbindung<br>u. basische, blau fluoreszieren-<br>de Stickstoffverbindung |
|            | $pH 8,6$  | —                           | —                         |                                                                                                      |
| $B_{III}$  | $pH 2,05$ | 1                           | —                         | stärker basische<br>Eiweissverbindung<br>quartäre, blau fluoreszierende<br>Stickstoffverbindungen    |
|            | $pH 8,6$  | 3                           | —                         |                                                                                                      |
| $B_{IV}$   | $pH 2,05$ | —                           | —                         | nicht, oder sehr schwach<br>basische<br>Stickstoffverbindungen                                       |
|            | $pH 8,6$  | —                           | —                         |                                                                                                      |

Die Heranziehung der Papierelektrophorese zur Aufklärung der stofflichen Zusammensetzung der Fraktion B I, B II, B III und B IV brachte einen gewissen Fortschritt mit sich. Es konnten Eiweissverbindungen unterschiedlicher Basizität nach-

gewiesen werden, daneben aber auch andere verschieden basische stickstoffhaltige Verbindungen, die zum Teil quartärer Natur waren und im UV-Licht blau fluoreszierten. Ob es sich bei diesen wasserlöslichen Stickstoffverbindungen um "wasserlösliche Alkaloide" handelt oder nicht, konnte nicht mehr weiter verfolgt werden, da nur begrenzte Mengen Droge zur Verfügung standen.

Im Folgenden wird nun die präparative Trennung des Rohalkaloidbasengemisches angegangen, um auf diese Weise den endgültigen Beweis für das Vorhandensein von Scopolamin und Atropin in der DATURA PITTIERI (Safford) erbringen zu können und andererseits auch eine Charakterisierung des noch unbekannten Alkaloid I zu ermöglichen.



T E I L   I I I

Versuche zur Trennung des Rohalkaloidbasengemisches



Zur Trennung des Rohalkaloidbasengemisches in seine Komponenten wurden vorwiegend neuere Trennungsmethoden auf ihre Brauchbarkeit hin geprüft.

Zunächst wurde jedoch versucht, eine Trennung des Rohalkaloidbasengemisches in seine Komponenten in einfacher Weise zu erreichen und zwar durch Verteilung des in Salzform vorliegenden Rohalkaloidbasengemisches zwischen Chloroform und Wasser, oder durch Verteilung des Rohalkaloidbasengemisches zwischen Chloroform und Pufferlösung bei verschiedenem oder konstantem  $p_H$ . Später wurde die Auftrennung des Rohalkaloidbasengemisches adsorptionschromatographisch an Aluminiumoxyd und schliesslich verteilungschromatographisch an Zellosepulver und gepuffertem Silicagel angestrebt.

A) Verteilung verschiedener Salze des Rohalkaloidbasengemisches zwischen Chloroform und Wasser

In der Literatur wird berichtet (8), dass die Hydrochloride von Tigloidin, Poroidin und Isoporoidin gut aus wässriger Lösung mit Chloroform ausgeschüttelt werden können; Valeroidinhydrochlorid dagegen verhält sich gerade umgekehrt, d.h. es verbleibt bei einfachem Ausschütteln seiner wässrigen Lösung mit Chloroform in der Wasserphase und kann auf diese Weise somit leicht von den anderen bereits genannten Alkaloiden getrennt werden. Es wurde deshalb das Rohalkaloidbasengemisch auf sein Verhalten unter analogen Bedingungen geprüft, um etwaige Unterschiede der im Rohalkaloidbasengemisch enthaltenen Komponenten bezüglich der Löslichkeit bzw. einer Verteilung zwischen Chloroform und Wasser feststellen zu können.

800 mg Rohalkaloidbasengemisch wurden in 20 ml Chloroform gelöst und mit einem Überschuss an HCl-haltigem Chloroform versetzt; es entstand ein weisser, voluminöser Niederschlag. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels im Vakuum ( $N_2$ -Atmosphäre) hinterblieb ein weisser, schaumiger, äusserst hygroskopischer Rückstand.

780 mg Rohalkaloidhydrochloridgemisch wurden in 25 ml destilliertem Wasser gelöst und 5mal mit dem gleichen Volumen Chloroform je 5 Minuten lang geschüttelt. Die einzelnen Chloroformphasen wurden 2mal mit dem gleichen Volumen 5%iger Ammoniakflüssigkeit gegengeschüttelt, dann mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert, das Filtrat im Vakuum eingedampft und der Rückstand gewogen (=Fraktion 1-5). Die nach 5maligem Ausschütteln mit Chloroform verbliebene Wasserphase wurde mit einem geringen Überschuss an verdünnter Ammoniakflüssigkeit versetzt und mit dem gleichen Volumen Chloroform ausgeschüttelt. Diese Chloroformphase wurde entsprechend den anderen 5 Chloroformfraktionen aufgearbeitet (=Fraktion 6). Die Ausbeuten der einzelnen Fraktionen sind in der Tabelle 17 zusammengestellt.

Tab.17

| Fraktion | Ausbeute |
|----------|----------|
| 1        | 11 mg    |
| 2        | 2 mg     |
| 3        | 1 mg     |
| 4        | 1 mg     |
| 5        | < 1 mg   |
| 6        | 242 mg   |

Der vorliegende Versuch zeigte also, dass die Hydrochloride der im Rohalkaloidbasengemisch enthaltenen Alkaloide bei einer Verteilung zwischen Chloroform und Wasser bevorzugt in der Wasserphase verbleiben und nur ein geringer Bruchteil davon in Chloroform löslich ist. Somit lässt dieser Versuch eine gewisse Parallelität zwischen den im Rohalkaloidbasengemisch enthaltenen Komponenten und dem Valeroidin erkennen.

Die einzelnen Fraktionen wurden papierchromatographisch (Versuchsbedingungen s.S.26) auf ihre Zusammensetzung untersucht

Tab.18

| Fraktion   | Rf-Werte |      |      |
|------------|----------|------|------|
| 1          | —        | 0,60 | —    |
| 2          | —        | 0,68 | —    |
| 3          | —        | 0,70 | —    |
| 4          | —        | 0,69 | —    |
| 5          | —        | 0,69 | —    |
| 6          | 0,60     | 0,70 | 0,84 |
| Scopolamin | —        | 0,70 | —    |
| Atropin    | —        | —    | 0,84 |

Papierchromatographisch ergab sich nun der interessante Befund, dass in den Fraktionen 1-5 nur Scopolamin, nicht dagegen Alkaloid I und Atropin enthalten war, d.h. Alkaloid I-Hydrochlorid und ebenso Atropinhydrochlorid verbleiben bei der Verteilung ausschliesslich in der Wasserphase, während Scopolaminhydrochlorid bereits, wenn auch nur zu einem geringen Teil eine Verteilung zwischen den beiden Phasen erfährt. Ob es sich hierbei um eine echte Verteilung des Scopolaminhydrochlorids zwischen den beiden Phasen handelt, muss angezweifelt werden, nachdem die Mengen des mit Chloroform ausschüttelbaren Anteils sehr rasch auf Null absinken (vgl. Tab.17). Im vorliegenden Versuch wird wohl in erster Linie das in Wasser gelöste Scopolaminhydrochlorid bis zu einem gewissen Grade hydrolytisch in Chlorwasserstoff und Scopolamin gespalten und das dem Gleichgewicht entsprechende freie Scopolamin kann dann mit Chloroform zum Teil ausgeschüttelt werden. In den folgenden Ausschüttelungen wurden durch die  $p_H$ -Verschiebung der wässrigen Phase jeweils abnehmende Mengen Scopolamin von der Chloroformphase aufgenommen. Je schwächer basisch ein Alkaloid ist, umso umfangreicher ist die hydrolytische Aufspaltung seiner Salze, d.h. umso weiter verschiebt sich das Salz-Basen-Gleichgewicht auf die Seite der freien Base und umso grösser wird ein mit Chloroform ausschüttelbarer Anteil sein.

Da aber im vorliegenden Versuch nur Scopolamin in der Chloroformphase nachgewiesen werden konnte, müssen die beiden anderen im Rohalkaloidbasengemisch enthaltenen Alkaloide, nämlich Alkaloid I und Atropin mit Sicherheit stärker basisch sein als Scopolamin. Wegen dieser unterschiedlichen Basizität wurde nun einmal versucht, eine Trennung des Rohalkaloidbasengemisches in seine Komponenten durch fraktioniertes Ausschütteln einer entsprechenden chloroformigen Lösung mit verdünnter Säure herbeizuführen.

800 mg Rohalkaloidbasengemisch wurden in 25 ml Chloroform gelöst und 4 mal mit je  $\frac{1}{5}$  der äquivalenten Menge  $n/10$  HBr-Lösung (= je 5 ml  $n/10$  HBr-Lösung) ausgeschüttelt. Für die Berechnung der genannten äquivalenten Menge wurde dem Rohalkaloidbasengemisch das Molgewicht von Scopolamin zugrunde gelegt. Die jeweils erhaltene Wasserphase wurde mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit in geringem Überschuss versetzt, mit Chloroform ausgeschüttelt, die Chloroformphase in üblicher Weise aufgearbeitet (=Fraktion 1-4). Die 4 mal mit Säure ausgeschüttelte Chloroformlösung des Rohalkaloidbasengemisches wurde abschliessend mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit gegengeschüttelt und dann analog wie Fraktion 1-4 behandelt (=Fraktion 5).

Papierchromatographische Versuche (Versuchsbedingungen vgl. S.26) gaben Aufschluss über die in den einzelnen Fraktionen vorliegenden Alkaloide. Die Ergebnisse sind in Tabelle 19 zusammengestellt.

Tab.19

| Fraktion   | Rf-Werte <sup>x)</sup> |         |        |
|------------|------------------------|---------|--------|
| 1          | 0,57 ++                | 0,49 +  | 0,61 o |
| 2          | 0,39 +                 | 0,50 ++ | —      |
| 3          | 0,37 o                 | 0,49 ++ | —      |
| 4          | —                      | 0,51    | —      |
| 5          | —                      | 0,55    | —      |
| Scopolamin | —                      | 0,52    | —      |
| Atropin    | —                      | —       | 0,61   |

x) Abkürzungen: o=sehr wenig; +=wenig; ++= viel;

Die im vorangegangenen Versuch angestellten Betrachtungen bezüglich einer unterschiedlichen Basizität der einzelnen Komponenten des Rohalkaloidbasengemisches wurden durch diesen Versuch sehr schön bestätigt. Papierchromatographisch ergab sich, dass beim fraktionierten Ausschütteln einer chloroformigen Lösung des Rohalkaloidbasengemisches mit  $n/10$ -Bromwasserstoffsäure entsprechend den gemachten Angaben zuerst überwiegend die stärkeren Basen, also Alkaloid I und Atropin abgetrennt werden, während die Hauptmenge des Scopolamins hierbei noch in der Chloroformphase verbleibt. Erst bei weiterem Ausschütteln mit Säure wird dann der Chloroformlösung das Scopolamin vollständig entzogen. Fraktion 1 enthielt neben geringen Mengen Scopolamin sehr viel Alkaloid I und das gesamte in der eingesetzten Menge Rohalkaloidbasengemisch enthaltene Atropin. Bei Fraktion 3 dagegen lagen die Verhältnisse bereits umgekehrt, d.h. neben einer sehr geringen Menge Alkaloid I war sehr viel Scopolamin vorhanden. Fraktion 4 und 5 enthielten nur noch Scopolamin.

Die vorliegenden Versuche waren für die weitere Arbeitsrichtung wegweisend. Jene unterschiedliche Basizität der Komponenten des Rohalkaloidbasengemisches gab Anlass zu prüfen, ob eventuell durch geeignete Änderung des  $p_H$ -Wertes der Wasserphase eine Trennung durch fraktioniertes Ausschütteln zu erreichen ist.

B) Fraktioniertes Ausschütteln wässriger, gepuffelter Rohalkaloidbasengemisch-Lösungen mit Chloroform in Abhängigkeit vom  $p_H$ -Wert

923 mg Rohalkaloidbasengemisch wurden in 25 ml 0,1 mol. Zitronensäurelösung gelöst und durch Zusatz von 3 ml einer 0,5 mol. Dinatriumphosphatlösung potentiometrisch (Glaselektrode: Jonotest-Lautenschläger) auf  $p_H$  3 (genauer Wert: 3,07) eingestellt. Diese Lösung wurde 2mal mit dem gleichen Volumen Chloroform ausgeschüttelt und die vereinigten Chloroformphasen mit  $1/10$  ihres Volumens 10%iger Ammoniakflüssigkeit gegengeschüttelt, mit

Natriumsulfat getrocknet, filtriert, das Filtrat im Vakuum abdestilliert und der erhaltene Rückstand gewogen. Der  $p_H$ -Wert der mit Chloroform bei  $p_H$  3 ausgeschüttelten Rohalkaloidlösung wurde anschliessend entsprechend den in Tab.20 gemachten Angaben stufenweise erhöht; die dabei erhaltene wässrige Lösung wurde dann jeweils mit Chloroform ausgeschüttelt, die Chloroformphase analog obigen Angaben weiter behandelt. Die  $p_H$ -Einstellung erfolgte potentiometrisch durch Zusatz von 0,5 mol. Dinatriumphosphatlösung bzw. n/1 bzw. n/10 Natronlauge.

Tab.20

| Fraktion        | $p_H$ | eingestellt durch Zusatz von     | Ausbeute (mg)       |
|-----------------|-------|----------------------------------|---------------------|
| 1               | 3,07  | 3 ml 0,5 mol $Na_2HPO_4$ -Lösung | 68                  |
| 2               | 3,51  | 5 "                              | 43                  |
| 3               | 4,20  | 8 "                              | 113                 |
| 4               | 4,62  | 10 "                             | 115                 |
| 5               | 5,02  | 12 "                             | 119                 |
| 6               | 5,52  | 15 "                             | 121                 |
| 7               | 6,00  | 19 "                             | 96                  |
| 8               | 6,52  | 30 "                             | 82                  |
| 9               | 7,05  | 4 ml $\frac{1}{4}$ NaOH-Lösung   | 93                  |
| 10              | 7,58  | 6 "                              | 56                  |
| 11              | 8,10  | 7 ml $\frac{1}{40}$ NaOH-Lösung  | 24                  |
| 12              | 8,52  | 10 "                             | 21                  |
| 13              | 8,10  | 12 "                             | 14                  |
| 14              | 9,69  | 16 "                             | 4                   |
| 15              | 10,02 | 1 ml $\frac{1}{10}$ NaOH-Lösung  | < 1                 |
| Gesamtausbeute: |       |                                  | 969 mg <sup>9</sup> |

- x) Die Differenz zwischen der eingesetzten Menge Rohalkaloidbasengemisch und der wiedergewonnenen Alkaloidmenge dürfte in erster Linie darauf zurückzuführen sein, dass der sirupöse Rückstand der einzelnen Fraktionen nur bei erhöhter Temperatur vollständig von Chloroform hätte befreit werden können. Die Anwendung erhöhter Temperaturen wurde jedoch wegen der damit eventuell verbundenen Veränderung der Komponenten des Rohalkaloidbasengemisches stets unterlassen.

Die einzelnen Fraktionen wurden papierchromatographisch (Versuchsbedingungen vgl.S.26) untersucht; die darin nachgewiesenen Alkaloide sind in der Tabelle 21 zusammengestellt.

Tab.21

| Fraktion   | pH    | Rf-Werte <sup>x)</sup> |         |         |        |
|------------|-------|------------------------|---------|---------|--------|
| 1          | 3,07  | —                      | 0,44 °  | 0,56 ++ | —      |
| 2          | 3,52  | —                      | 0,44 °  | 0,56 ++ | —      |
| 3          | 4,20  | —                      | 0,44 °  | 0,56 ++ | —      |
| 4          | 4,62  | —                      | 0,45 °  | 0,56 ++ | —      |
| 5          | 5,02  | —                      | 0,44 +  | 0,55 ++ | —      |
| 6          | 5,52  | —                      | 0,44 +  | 0,56 ++ | —      |
| 7          | 6,00  | —                      | 0,44 ++ | 0,56 ++ | —      |
| 8          | 6,52  | —                      | 0,45 ++ | 0,56 ++ | —      |
| 9          | 7,05  | 0,23 °                 | 0,45 ++ | 0,56 +  | 0,70 ° |
| 10         | 7,58  | 0,23 °                 | 0,44 ++ | 0,55 +  | 0,70 ° |
| 11         | 8,10  | 0,23 °                 | 0,44 +  | 0,56 +  | 0,70 ° |
| 12         | 8,52  | 0,23 °                 | 0,44 +  | 0,56 +  | 0,70 ° |
| 13         | 9,10  | 0,23 °                 | 0,44 +  | 0,56 +  | 0,70 ° |
| 14         | 9,67  | 0,23 °                 | 0,44 +  | 0,56 °  | —      |
| 15         | 10,02 | 0,23 °                 | —       | —       | —      |
| Scopolamin | —     | —                      | —       | 0,56    | —      |
| Atropin    | —     | —                      | —       | —       | 0,70   |
| Scopolin   | —     | 0,23                   | —       | —       | —      |

x) vgl. Anmerkung zu Tab.19

Wie die Tabelle erkennen lässt, konnte durch fraktioniertes Ausschütteln des Rohalkaloidbasengemisches in der angegebenen Weise eine günstige Verschiebung des Scopolamin-

und Alkaloid I-Gehaltes von Fraktion zu Fraktion erreicht werden. Die einem  $p_H$ -Wert von 3,07 bis 4,62 entsprechenden Fraktionen (Nr.1-4) enthielten neben papierchromatographisch gerade noch nachweisbaren Mengen Alkaloid I nur Scopolamin. Auf diese Weise konnten demnach aus dem Rohalkaloidbasengemisch in diesem  $p_H$ -Bereich rund 35 % (bezogen auf Gesamtausbeute vgl.Tab.20) von der eingesetzten Menge an nahezu reinem Scopolamin abgetrennt werden. Eine weitere Erhöhung des  $p_H$ -Wertes der Wasserphase lief dann parallel mit einer stetigen Abnahme des Scopolamin- und einer entsprechenden Zunahme des Alkaloid I-Gehaltes in den einzelnen Fraktionen. Bei  $p_H$  6,00 bis 6,52 resultierten Alkaloidgemische, die aus etwa gleichen Teilen Scopolamin und Alkaloid I zusammengesetzt waren. Bei einem  $p_H$  57 enthielten die entsprechenden Fraktionen in der Hauptsache Alkaloid I; neben wenig Scopolamin waren noch sehr geringe Mengen Atropin und Scopolin nachweisbar.

Das Auftreten von Scopolin, dem bei Alkalieinwirkung auf Scopolamin entstehenden Hydrolyseprodukt, dürfte wohl in erster Linie auf die mit n/1 bzw. n/10 Natronlauge vorgenommene  $p_H$ -Einstellung zurückzuführen sein; in einem weiteren Versuch konnte nämlich gezeigt werden, dass ein analoges Vorgehen mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit keine Scopolinbildung zur Folge hat.

Der Nachweis von Scopolin wurde in einfacher Weise dadurch erbracht, dass Scopolamin kurze Zeit bei Zimmertemperatur mit verdünnter Natronlauge behandelt wurde; das Hydrolysat wurde anschliessend in üblicher Weise aufgearbeitet und papierchromatographiert. Im Hydrolysat waren noch geringe Mengen von unverändertem Scopolamin enthalten, daneben fand sich eine grössere Menge jener Substanz vom  $R_f$  0,23, die sich auch in der für Scopolin charakteristischen Weise beim Besprühen des Papierchromatogramms mit Dragendorff's Reagenz ziegelrot anfärben liess.

Auffallend war nun, dass bei diesem Versuch Atropin erst bei einem  $p_H$  57 aus der Wasserphase in Chloroform übergang, sodass auf Grund bisheriger Beobachtungen eine steigende Basizität

Der im Rohalkaloidbasengemisch enthaltenen Alkaloide in der Reihenfolge Scopolamin - Alkaloid I - Atropin recht deutlich zum Ausdruck kommt.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass durch fraktioniertes Ausschütteln in Abhängigkeit vom  $p_H$ -Wert in der angegebenen Weise eine recht beachtliche Anreicherung von Alkaloid I infolge Abtrennung eines grösseren Scopolaminanteils zu erreichen ist. Eine Reindarstellung von Alkaloid I gelingt jedoch auf diese Weise nicht.

Es wurde aber trotzdem noch versucht, durch entsprechende Änderung der Versuchsbedingungen eine bessere Trennung des Rohalkaloidbasengemisches zu erzielen. So wurde beispielsweise die für den jeweiligen  $p_H$ -Wert vorgesehene Zahl von Ausschüttelungen sehr wesentlich erhöht ( 10-20 Ausschüttelungen pro  $p_H$ -Wert ), oder die Volumenverhältnisse der beiden Phasen variiert. All diese Versuche führten lediglich zu einer mehr oder weniger vorteilhaften Anreicherung von Alkaloid I. Die besten Ergebnisse resultierten dann, wenn man die wässrige Lösung des Rohalkaloidbasengemisches bei  $p_H$  3,5 10mal mit Chloroform ausschüttelte und dabei ein Volumenverhältnis von Chloroform/Wasser gleich 10 : 1 wählte. Aus der hierbei verbliebenen Wasserphase wurde dann nach Einstellung auf  $p_H$  7 bis  $p_H$  8 ein Rohalkaloidbasengemisch erhalten, das entsprechend der papierchromatographisch ermittelten Fleckengrösse etwa 50 % Alkaloid I enthielt.

Ein wiederholtes fraktioniertes Ausschütteln eines auf diese Weise an Alkaloid I bereits angereicherten Rohalkaloidbasengemisches führte unter den genannten Bedingungen zu keiner weiteren Alkaloid I-Anreicherung mehr. Dieser Methode war somit eine gewisse Grenze gesetzt.

Nachdem durch einfaches Ausschütteln einer gepufferten wässrigen Rohalkaloidbasengemisch-Lösung mit Chloroform zwar keine befriedigende Trennung des Rohalkaloidbasengemisches, aber immerhin eine recht beachtliche Alkaloid I-Anreicherung erreicht werden konnte, war es naheliegend, das Rohalkaloidbasengemisch einer multiplikativen Verteilung zu unterwerfen. Für

eine solche Manipulation erschien ein  $p_H$ -Wert von 6 am geeignetsten, da entsprechend den zuletzt gemachten Erfahrungen Scopolamin bei diesem  $p_H$ -Wert bevorzugt in die Chloroformphase übergeht, Alkaloid I dagegen überwiegend in der Wasserphase verbleibt.

C) Multiplikative Verteilung des Rohalkaloidbasengemisches zwischen Chloroform und Phosphat-Zitronensäurepuffer von  $p_H$  6.

Zur Durchführung der multiplikativen Verteilung wurde zunächst eine grössere Menge Chloroform und Zitronensäure-Phosphat-Puffer von  $p_H$  6 durch Schütteln bei Zimmertemperatur gegenseitig gesättigt. Die erforderliche Pufferlösung wurde in der Weise bereitet, dass 250 ml 0,1 molare Zitronensäurelösung potentiometrisch (Glaselektrode, Jonotest) durch Zusatz von 0,5 molarer Dinatriumphosphatlösung auf  $p_H$  6 eingestellt wurden. Im Folgenden soll der Einfachheit wegen unter Chloroform oder Pufferlösung- $p_H$  6 stets das mit der Gegenphase bei Zimmertemperatur gesättigte System verstanden werden.

1,5 g Rohalkaloidbasengemisch wurden zunächst in 25 ml 0,1 mol. Zitronensäurelösung gelöst, mit 19 ml 0,5 mol. Dinatriumphosphatlösung potentiometrisch auf  $p_H$  6 eingestellt und nach Zusatz von 300 ml Chloroform 5 Minuten lang kräftig geschüttelt. Anschliessend blieb das System zur Phasentrennung 5 Minuten lang ruhig stehen. Dann wurde die Chloroformphase in einen 2. Scheidetrichter abgelassen, der bereits 30 ml Pufferlösung  $p_H$  6 enthielt. In den 1. Scheidetrichter wurden 300 ml frisches Chloroform gegeben und beide Scheidetrichter wieder 5 Minuten lang kräftig geschüttelt. Nach vollständiger Phasentrennung wurde die Chloroformphase des 2. Scheidetrichters in einen 3. Scheidetrichter abgelassen, der bereits 30 ml Pufferlösung  $p_H$  6 enthielt. Die Chloroformphase des 1. Scheidetrichters wurde in den 2. Scheidetrichter gegeben, der 1. Scheidetrichter wurde mit 300 ml frischem Chloroform ergänzt. Nun wurde

Die bisher analog weiterverfahrenden, bis insgesamt 6 Scheidetrichter in den Verteilungsprozess eingeschaltet waren. Der 6. Scheidetrichter wurde insgesamt 12mal mit Chloroform beschickt, sodass nach dem Passieren sämtlicher Scheidetrichter am 6. Scheidetrichter 12 Chloroformphasen entnommen werden konnten, die fortlaufend von 1-12 numeriert wurden. Die am Versuchsende in den Scheidetrichtern (1-6) verbliebenen Wasserphasen wurden rückläufig mit den Fraktionsnummern 13 bis 18 belegt. Die entnommenen Chloroformphasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel im Vakuum befreit. Die dabei verbliebenen Rückstände wurden jeweils ausgewogen; die Ausbeuten sind in der Tabelle 22 zusammengestellt. Die in den Scheidetrichtern verbliebenen Wasserphasen wurden mit einem geringen Überschuss verdünnter Ammoniakflüssigkeit versetzt und jeweils mit 100 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die Aufarbeitung der einzelnen Chloroformphasen gestaltete sich dann analog den oben gemachten Angaben.

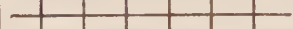
Tab.22

| Fraktion                 | Ausbeute |        | Fraktion | Ausbeute |        |
|--------------------------|----------|--------|----------|----------|--------|
| 1                        | 583 mg   | 990 mg | 9 + 10   | 54 mg    | 121 mg |
| 2                        | 409 mg   |        | 11 + 12  | 40 mg    |        |
| 3                        | 171 mg   |        | 13       | 29 mg    |        |
| 4                        | 95 mg    | 454 mg | 14       | 20 mg    | 124 mg |
| 5                        | 60 mg    |        | 15       | 46 mg    |        |
| 6                        | 44 mg    |        | 16       | 15 mg    |        |
| 7 + 8                    | 84 mg    |        | 17       | 10 mg    |        |
|                          |          |        | 18       | 65 mg    |        |
| Gesamtausbeute : 1689 mg |          |        |          |          |        |

Die Fraktionen 1-18 wurden papierchromatographiert (Versuchsbedingungen vgl. S.26); das Ergebnis ist schematisch in Tabelle 23 dargestellt, wobei  bzw.  einen zunehmenden bzw. abnehmenden,  einen gleichbleibenden Gehalt des

betreffenden Alkaloids von Fraktion zu Fraktion bedeutet. Die Pfeil- bzw. Balkenbreite gestattet gleichzeitig eine gewisse Aussage über die mengenmässige Verteilung der einzelnen Alkaloide innerhalb der betreffenden Fraktion: je breiter ein solches Zeichen für eine Fraktion ist, umso grösser ist die betreffende Alkaloidmenge; ein — bedeutet, dass es sich bei dem betreffenden Alkaloid um äusserst geringe Mengen handelt.

Tab.23

| Fraktion<br>Nr. | 1                                                                                 | 2                                                                                 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9                                                                                 | 10 | 11 | 12 | 13                                                                                | 14                                                                                | 15 | 16 | 17 | 18 |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|---|---|---|-----------------------------------------------------------------------------------|----|----|----|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----|----|----|----|
| Scopolamin      |  |  |   |   |   |   |   |   |  |    |    |    |  |                                                                                   |    |    |    |    |
| Alkaloid I      |                                                                                   |  |   |   |   |   |   |   |  |    |    |    |  |  |    |    |    |    |
| Atropin         |                                                                                   |  |   |   |   |   |   |   |  |    |    |    |  |  |    |    |    |    |
| Scopolin        |                                                                                   |                                                                                   |   |   |   |   |   |   |                                                                                   |    |    |    |                                                                                   |  |    |    |    |    |

Bei einer multiplikativen Verteilung des Rohalkaloidbasengemisches zwischen Chloroform und einer Pufferlösung von  $p_H$  6 über nur 6 Stufen gelingt es, wie der vorliegende Versuch zeigt, wesentlich mehr Scopolamin aus dem Rohalkaloidbasengemisch abzutrennen als in vorhergegangenen Versuchen. Sieht man einmal von den in den Fraktionen 1 und 2 enthaltenen, papierchromatographisch gerade noch nachweisbaren Mengen Alkaloid I und Atropin ab, so entspricht die gefundene Scopolaminmenge bereits 58 % der eingesetzten Menge an Rohalkaloidbasengemisch; andererseits bedeutet dies natürlich für das verbleibende Rohalkaloidbasengemisch eine ganz beachtliche Alkaloid I-Anreicherung (vgl. S.55).

Es ist sehr unwahrscheinlich, dass das in den Fraktionen 14-18 enthaltene Scopolin sich erst während der Durchführung der multiplikativen Verteilung etwa aus Scopolamin infolge hydrolytischer Einflüsse gebildet hat; wäre dies tatsächlich der Fall gewesen, dann hätte sich auch in den übrigen Fraktionen (Nr. 1-13) Scopolin nachweisen lassen müssen. Die Fraktionen 1-13 waren papierchromatographisch jedoch frei von Scopolin. Es scheint vielmehr die Annahme berechtigt, dass Scopolin von Anfang an im Rohalkaloidbasengemisch enthalten

,jedoch in einer Konzentration, die einen papierchromatographischen Nachweis nicht zulässt. Erst nach einer gewissen Anreicherung des Scopolins gelingt dann dessen Nachweis. Eine multiplikative Verteilung hat gewiss eine derartige Anreicherung bewirkt und lässt das Auftreten von Scopolin in den Fraktionen nunmehr verständlich erscheinen.

Beim Betrachten der Tabelle fällt nun auf, dass das Maximum von Scopolamin bei Fraktion 1, das von Alkaloid I dagegen erst bei Fraktion 9-12 liegt; die Hauptmenge von Atropin befindet sich in den Fraktionen 14-18. Daraus geht schon ziemlich deutlich hervor, dass eine multiplikative Verteilung über mehrere Stufen mit grosser Wahrscheinlichkeit zur Trennung des Rohalkaloidbasengemisches in seine Komponenten geeignet hätte. Da eine entsprechende Verteilungsbatterie augenblicklich nicht zur Verfügung stand und ein Arbeiten nach der Scheidetrichtermethode mit 20 oder mehr Scheidetrichtern sich nicht sinnvoll gestalten lässt, wurde deshalb ein an Alkaloid I bereits angereichertes Rohalkaloidbasengemisch entsprechend weniger Scheidetrichtermethode erneut einer multiplikativen Verteilung unterworfen, um gegebenenfalls schon auf diese Weise zu reinem Alkaloid I zu kommen.

Aus diesem Grunde wurde zunächst eine etwas grössere Menge des den vereinigten Fraktionen 2-8 entsprechenden Produktes <sup>x)</sup> hergestellt. Die Ergebnisse der ersten multiplikativen Verteilung liessen sich dabei einwandfrei reproduzieren.

1,5 g des auf diese Weise an Alkaloid I angereicherten Rohalkaloidbasengemisches wurden in 25 ml 0,1 mol. Zitronensäurelösung gelöst und potentiometrisch durch Zusatz von 5 mol. Dinatriumphosphatlösung auf  $p_H$  6 eingestellt. Anschliessend wurde mit 300 ml Chloroform ausgeschüttelt und eine weitere multiplikative Verteilung ganz analog den oben

Anmerkung: Obwohl das Mengenverhältnis von Alkaloid I zu den anderen Alkaloiden in den folgenden Fraktionen (Nr. 9-12) günstiger lag, lohnte eine weitere Auftrennung wegen des geringen Anfalls an Material (s. Tab. 22) nicht.

gemachten Angaben durchgeführt. Die Alkaloidausbeuten der einzelnen Fraktionen sind in der Tabelle 24 dargestellt, die entsprechenden papierchromatographischen Ergebnisse (Versuchsbedingungen vgl. S. 26) schematisch in der Tabelle 25 zusammengestellt.

Tab. 24

| Fraktion               | Ausbeute |        | Fraktion | Ausbeute |       |
|------------------------|----------|--------|----------|----------|-------|
| 1                      | 589 mg   | 862 mg | 10       | 14 mg    | 47 mg |
| 2                      | 273 mg   |        | 11       | 9 mg     |       |
| 3                      | 136 mg   |        | 12       | 10 mg    |       |
| 4                      | 90 mg    | 357 mg | 13       | 14 mg    |       |
| 5                      | 50 mg    |        | 14       | 19 mg    |       |
| 6                      | 34 mg    |        | 15       | 14 mg    |       |
| 7                      | 26 mg    |        | 16       | 9 mg     |       |
| 8                      | 23 mg    |        | 17       | 20 mg    |       |
| 9                      | 18 mg    |        | 18       | 92 mg    |       |
| Gesamtausbeute 1420 mg |          |        |          |          |       |

Tab. 25

| Fraktion Nr. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Scopolamin   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Alkaloid I   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Atropin      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |

Eine erneute multiplikative Verteilung eines an Alkaloid I bereits angereicherten Rohalkaloidbasengemisches in dem oben angegebenen System ergab nun, dass die im vorangegangenen Versuch angestellten Überlegungen (vgl. S. 57) sich auch tatsächlich weitgehend verwirklichen liessen. In den ersten beiden Fraktionen (Nr 1-2) war nur Scopolamin enthalten, sodass auf Grund der gefundenen Ausbeuten rund 57 % der eingesetzten Menge Rohalkaloidbasengemisch als Scopolamin ab-

getrennt worden waren. Die Fraktionen 3-13 enthielten nur Scopolamin und Alkaloid I, ersteres mit ständig abnehmendem, letzteres mit zunehmendem Gehalt. Diese Fraktionen wurden verunreinigt; dabei resultierte ein Gemisch, das mindestens 75 % Alkaloid I enthielt. Die Fraktionen 14-18 enthielten schon nahezu reines Alkaloid I; es war nur noch mit geringsten Mengen Scopolamin und Atropin verunreinigt.

Bemerkenswert ist wohl auch, dass bei diesem Verteilungsvorgang kein Scopolin mehr in den einzelnen Fraktionen nachgewiesen werden konnte. Die Richtigkeit der bei der ersten multiplikativen Verteilung (vgl. S. 57) diesbezüglich angestellten Betrachtungen ist damit bewiesen.

Zusammenfassend sei nun festgestellt, dass durch eine wiederholte multiplikative Verteilung in dem System Chloroform/Zitronensäure-Phosphat-Puffer  $p_H$  6 eine weitgehende Trennung des Rohalkaloidbasengemisches gelingt. Auf diese Weise kann man die Hauptmenge des in dem Rohalkaloidbasengemisch enthaltenen Scopolamins in reiner Form abtrennen. Der Gewinnung von reinem Alkaloid I kommt man ebenfalls schon sehr nahe. Es wird bereits ein Produkt erhalten, das nur noch mit geringsten Mengen Scopolamin und Atropin verunreinigt ist. Die Ausbeute dieses Produktes beträgt rund 10 %, bezogen auf die eingesetzte, an Alkaloid I bereits angereicherte Rohalkaloidmenge. Daneben wird zusätzlich ein Alkaloid I-Scopolamin-Gemisch erhalten, das mindestens 75 % Alkaloid I enthält.

Dieses nahezu reine Alkaloid I hätte gewiss durch eine weitere multiplikative Verteilung über 6 Stufen in obigem System in völlig reiner Form dargestellt werden können. Es standen jedoch keine solchen Mengen an Rohmaterial zur Verfügung, dass sich dieses Vorhaben hätte verwirklichen lassen. Aus diesem Grunde war es auch unbedingt erforderlich gewesen, nicht nur einen gewissen Teil des in dem Rohalkaloidbasengemisch enthaltenen Alkaloid I abzutrennen, sondern nach einer Methode zu suchen, die eine quantitative Abtrennung dieses Alkaloides gestattete. Die bisherigen Versuche bezüglich einer Verteilung

des Rohalkaloidbasengemisches in einem geeigneten System waren aus naheliegenden Gründen wegweisend für die nun folgenden Versuche verteilungschromatographischer Art (s.S.63). Parallel zu diesen Versuchen wurde auch geprüft, ob sich die gewünschte Abtrennung von Alkaloid I auf adsorptionschromatographischem Wege erreichen lässt. Die Ergebnisse dieser Versuche seien im Folgenden denen verteilungschromatographischer Art vorangestellt.

#### D) Adsorptionschromatographische Versuche

##### 1) Versuche zur Trennung des Rohalkaloidbasengemisches als Reineckat an Aluminiumoxyd

##### a) Darstellung des Rohalkaloidreineckatgemisches

1,0 g Rohalkaloidbasengemisch wurden in 20 ml 5%iger Essigsäure gelöst und mit einer gesättigten, wässrigen Reineckesalzlösung im Überschuss versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abzentrifugiert, 3mal mit je 5 ml Wasser nachgewaschen und im Exsiccator getrocknet.

Um die Regenerierbarkeit der Rohalkaloidbasen aus dem Reineckat feststellen zu können, wurde eine kleine Probe des Rohalkaloidreineckatgemisches mit 5 ml verdünnter Ammoniakflüssigkeit versetzt und mit dem gleichen Volumen Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformphase wurde anschliessend mit 4-5 ml 5%iger Essigsäure ausgeschüttelt; die wässrige Lösung gab nach Zusatz einer Reineckesalzlösung oder von Dragendorff's Reagenz kräftige Fällungen.

Das Rohalkaloidreineckatgemisch ist demnach mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit in seine Komponenten zerlegbar; durch einfaches Ausschütteln der ammoniakalischen Lösung mit Chloroform können die freien Alkaloidbasen

wiedergewonnen werden. Die Aufarbeitung der im folgenden Versuch abgenommenen reineckathaltigen Elute wurde in analoger Weise vorgenommen.

b) Adsorption von Rohalkaloidreineckatgemisch an Aluminiumoxyd

605 mg Rohalkaloidreineckatgemisch wurden, in 5 ml frisch destilliertem Aceton gelöst, einer  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Säule (Länge 20 cm, Durchmesser 1,8 cm; 47 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Woelm, Akt.St.I, sauer) aufgesetzt und mit 250 ml Aceton eluiert. Das Elut wurde im Vakuum vom Lösungsmittel befreit, der Rückstand wog 375 mg. Somit waren 230 mg Rohalkaloidreineckatgemisch von der eingesetzten Menge  $\text{Al}_2\text{O}_3$  adsorbiert worden. Das  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Adsorbat wurde an der Luft getrocknet, gut vermischt und als solches dann weiterverwendet.

c) Säulenchromatographische Trennung des Rohalkaloidreineckatgemisches

5,0 g des obigen Reineckat-Adsorbats (= 24,4 mg Rohalkaloidreineckatgemisch) wurden in einer  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Säule (Länge 20 cm, Durchmesser 1,8 cm;  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Woelm, Akt.St.I, sauer) aufgesetzt und zunächst mit Aceton eluiert. Mit Aceton allein konnte jedoch keine Wanderung und damit auch keine Trennung der einzelnen Reineckate voneinander erreicht werden. Ebenso wenig brauchbar war als Elutionsmittel ein Aceton-Methanol-Gemisch mit steigendem Methanolgehalt (10-40 %), oder ein Aceton-Isopropylalkohol-Gemisch (3+2); bei Verwendung eines Aceton-Essigsäure-Gemisches mit einem Mindest-Essigsäuregehalt von 10 % gelang eine Trennung des eingesetzten Reineckats in eine schneller wandernde, hellrot gefärbte und in eine davon deutlich abgesetzte, wesentlich breitere, stärker rotgefärbte Zone. Die beiden Zonen konnten mit diesem Lösungsmittelgemisch vollständig eluiert werden und die entsprechenden Elute wurden in der bereits angegebenen Weise

(vgl. a) aufgearbeitet. Die erhaltenen Fraktionen 1-3 — Fraktion 2 stellt eine Zwischenfraktion dar und wurde nur deshalb abgenommen, um eine möglichst exakte Trennung der beiden Zonen zu gewährleisten — wurden papierchromatographisch (Versuchsbedingungen vgl. S. 26) auf die Zusammensetzung hin untersucht. Das Ergebnis ist tabellarisch zusammengestellt:

Tab. 26

| Fraktion   | Rf-Werte |         |        |
|------------|----------|---------|--------|
| 1          | 0,49 ++  | 0,61 0  | 0,77 0 |
| 2          | 0,48 0   | 0,61 ++ | —      |
| 3          | —        | 0,61 0  | —      |
| Scopolamin | —        | 0,62    | —      |
| Atropin    | —        | —       | 0,77   |

Fraktion 1, die jener schnell wandernden Zone des Säulenchromatogramms entspricht, enthält hauptsächlich Alkaloid I neben sehr geringen Mengen Scopolamin und Atropin; in Fraktion 3 konnte dagegen nur Scopolamin nachgewiesen werden.

Eine gewisse Bedeutung schien diese Methode zur Trennung des Rohalkaloidbasengemisches wohl zu haben und gewiss hätte durch geeignete Änderung der Versuchsbedingungen auf diese Weise reines Alkaloid I gewonnen werden können. Ein solches Vorhaben scheiterte aber vor allem daran, dass nach dem Übertragen in den präparativen Masstab auf diese Weise Alkaloid I nicht mehr abgetrennt werden konnte. Auch die relativ geringe Adsorbierbarkeit des Rohalkaloidreineckatgemisches an  $Al_2O_3$  beeinträchtigte nicht unwesentlich die Brauchbarkeit dieser adsorptionschromatographischen Methode zur präparativen Gewinnung von Alkaloid I.

1) Verteilungschromatographische Versuche

1) Versuche zur Trennung des Rohalkaloidbasengemisches an Zellulosepulver

Wenn man für die papierchromatographische Trennung eines bestimmten Stoffgemisches ein geeignetes Lösungsmittelsystem ausfindig gemacht hat, kann man entsprechend dem Hinweis von F. C r a m e r (16) mit diesem System häufig eine gleich gute Trennung im präparativen Massstab dann erreichen, wenn man dabei auf Zellulosepulversäulen arbeitet.

Nachdem bei der papierchromatographischen Charakterisierung des Rohalkaloidbasengemisches einige Lösungsmittelsysteme mit Erfolg Verwendung fanden (vgl. S.26 ff), war es zunächst wohl am naheliegendsten, mit diesen Systemen nun im präparativen Massstab auf Zellulosepulver eine Trennung des Rohalkaloidbasengemisches anzugehen, um gegebenenfalls hiermit die gewünschte quantitative Abtrennung von Alkaloid I aus dem Rohalkaloidbasengemisch zu erreichen (vgl. S.59).

Bei Verwendung von n-Butanol-Eisessig-Wasser und Isopropylalkohol-Eisessig-Wasser als Lösungsmittelsystem wurden bei jenen Versuchen die besten Ergebnisse erhalten. Mit letzterem wurden, wie Tabelle 27 erkennen lässt, die grössten  $R_f$ -Differenzen von Alkaloid zu Alkaloid erhalten, sodass diesem System der Vorzug zu geben war und dieses im nachstehenden Versuch auch verwendet wurde.

Tab.27

| Lösungsmittelsystem                                        | Rf- Werte  |            |         |
|------------------------------------------------------------|------------|------------|---------|
|                                                            | Alkaloid I | Scopolamin | Atropin |
| n-Bu(OH) : Eisessig : H <sub>2</sub> O = 4 : 1 : 5         | 0,55       | 0,65       | 0,76    |
| Isopropylalkohol : Eisessig : H <sub>2</sub> O = 8 : 1 : 1 | 0,61       | 0,98       | 0,91    |

150 g Zellulosepulver ( Macherey u.Nagel) wurden mit dem Lösungsmittelgemisch Isopropylalkohol:Eisessig:Wasser=8:1:1 in ein Glasrohr (Durchmesser 3,7 cm) eingeschlämmt und zu einer 45 cm hohen Säule zusammengepresst.

500 mg Rohalkaloidbasengemisch wurden in 5 ml des oben genannten Lösungsmittelsystems gelöst und dann der Säule aufgesetzt; anschliessend wurde mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch eluiert; die Tropfgeschwindigkeit wurde auf 2-5/Minute einreguliert. Die abgenommenen Elutfraktionen wurden jeweils weitgehend eingeengt, mit Wasser wieder verdünnt und nach Zugabe eines geringen Überschusses verdünnter Ammoniakflüssigkeit mit dem gleichen Volumen Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformphasen wurden in der bisher üblichen Weise aufgearbeitet; die abgenommenen Elutmengen und die darin enthaltenen Alkaloidmengen sind in nachstehender Tabelle einander gegenübergestellt.

Die papierchromatographisch (Versuchsbedingungen vgl.S.26) ermittelte Zusammensetzung der einzelnen Fraktionen kann ebenfalls dieser Tabelle entnommen werden; bezüglich der benutzten Schematisierung sei auf die Erläuterungen der Tabelle 23 (vgl.S.55 u. 56) verwiesen.

Tab.28

| Fraktion | Eluierungsmenge<br>ml | Ausbeute<br>mg | mg/ml Elut. | Scopolamin | Alkaloid I | Atropin |
|----------|-----------------------|----------------|-------------|------------|------------|---------|
| 1        | 190                   | —              | —           |            |            |         |
| 2        | 25                    | —              | —           |            |            |         |
| 3        | 25                    | 9              | 0,36        |            |            |         |
| 4        | 10                    | 12             | 1,20        |            |            |         |
| 5        | 29                    | 34             | 1,17        |            |            |         |
| 6        | 25                    | 52             | 2,08        |            |            |         |
| 7        | 10                    | 50             | 5,00        |            |            |         |
| 8        | 40                    | 182            | 4,55        |            |            |         |
| 9        | 18                    | 43             | 2,39        |            |            |         |
| 10       | 10                    | 40             | 4,00        |            |            |         |
| 11       | 43                    | 38             | 0,76        |            |            |         |
| 12       | 50                    | 36             | 0,72        |            |            |         |
| 13       | 18                    | 14             | 0,78        |            |            |         |
| 14       | 50                    | 16             | 0,32        |            |            |         |
| 15       | 25                    | 13             | 0,52        |            |            |         |
| 16       | 45                    | 11             | 0,24        |            |            |         |
| Gesamt-: | 669 ml                | 545 mg         |             |            |            |         |

Im vorliegenden Versuch konnte wiederum ein Teil des im Rohalkaloidbasengemisch enthaltenen Scopolamins abgetrennt und Alkaloid I in dem verbliebenen Restgemisch angereichert werden. Die Reihenfolge der eluierten Alkaloide entsprach zwar recht gut der papierchromatographisch gemachten Erfahrung, doch überlappen sich die einzelnen Zonen offenbar noch weitgehend, sodass eine getrennte Elution der einzelnen Zonen nicht möglich war. Nachdem aber doch ein gewisser Teil des im Rohalkaloidbasengemisch enthaltenen Scopolamins auf diese Weise abgetrennt werden kann, galt es noch festzustellen, ob man das in einem an Alkaloid I bereits stark angereicherten Alkaloidgemisch noch vorhandene restliche Scopolamin mit Hilfe der Zellulosepulversäule quantitativ abtrennen und so zu reinem Alkaloid I kommen kann.

Der gewünschte Erfolg stellte sich jedoch nicht ein. Obwohl in den ersten Fraktionen nur Atropin, in den nachfolgenden nur Scopolamin enthalten war und damit eine Möglichkeit zur präparativen Trennung dieser beiden Alkaloide gegeben war, konnten daran anschliessend nur Fraktionen abgenommen werden, die neben Alkaloid I immer noch Scopolamin enthielten. Offenbar schien doch die Säulenkapazität bei diesen Versuchen viel zu gering zu sein, um eine vollständige Trennung der einzelnen Komponenten zu gewährleisten. Eine entsprechende Vergrösserung der Säulenkapazität war zwar naheliegend, konnte aber infolge gewisser apparativer Unzulänglichkeiten nicht verwirklicht werden.

In Anlehnung an die bei der multiplikativen Verteilung gemachten Beobachtungen (vgl. S. 56 ff) wurde in den nächsten Versuchen dazu übergegangen, analog dieser Verteilung vorzugehen und die Trennung des Rohalkaloidbasengemisches verteilungschromatographisch auf gepuffertem Zellulosepulver oder Silicagel unter Verwendung von Chloroform als Elutionsmittel zu versuchen.

## 2) Versuche zur Trennung des Rohalkaloidbasengemisches an gepuffertem Zellulosepulver

### a) Versuch zur Trennung des Rohalkaloidbasengemisches an $p_H$ 3,6-gepuffertem Zellulosepulver

150 g Zellulosepulver wurden mit 1,2 Liter Pufferlösung vom  $p_H$  3,6 (1 Liter 0,1 mol. Zitronensäurelösung + 200 ml 0,5 mol. Dinatriumphosphatlösung) getränkt, abgenutscht und an der Luft 17 Stunden lang getrocknet. Die entstandene krümelige Masse wurde durch ein Sieb geschlagen und weitere 3 Stunden luftgetrocknet. Das auf diese Weise präparierte, etwas feuchte Zellulosepulver wurde mit vorbehandeltem Chloroform (s. nachstehend) in ein Glasrohr (Durchmesser 36 mm) eingeschlämmt und zu einer 45 cm

langen Säule zusammengepresst. Das hierzu verwendete Chloroform war vorher einige Zeit lang mit Pufferlösung von  $p_H$  3,6 entsprechend oben angegebener Zusammensetzung geschüttelt, um es auf diese Weise mit Wasserphase zu sättigen. Auch zur Elution des Rohalkaloidbasengemisches wurde stets ein so vorbehandeltes Chloroform verwendet.

1 g Rohalkaloidbasengemisch wurde in 5 ml Chloroform gelöst und die Lösung der Zellulosepulversäule aufgesetzt. Anschliessend wurde mit Chloroform (90-100 Tropfen pro Minute) eluiert. Die abgenommenen Elute wurden jeweils etwa mit dem gleichen Volumen 5%iger Essigsäure ausgeschüttelt, die Wasserphasen mit einem geringen Überschuss verdünnter Ammoniakflüssigkeit versetzt und erneut mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformphasen wurden in der üblichen Weise aufgearbeitet. Die einander entsprechenden Elut- und Alkaloidmengen sind tabellarisch wiedergegeben.

Tab.29

| Fraktion               | Elutmenge | Ausbeute | Fraktion | Elutmenge | Ausbeute |
|------------------------|-----------|----------|----------|-----------|----------|
| 1                      | 60 ml     | 90 mg    | 7        | 8 ml      | 10 mg    |
| 2                      | 55 ml     | 542 mg   | 8        | 100 ml    | 22 mg    |
| 3                      | 80 ml     | 51 mg    | 9        | 100 ml    | 10 mg    |
| 4                      | 60 ml     | 27 mg    | 10       | 100 ml    | 12 mg    |
| 5                      | 55 ml     | 16 mg    | 11       | 150 ml    | 7 mg     |
| 6                      | 40 ml     | 28 mg    | 12       | 150 ml    | 12 mg    |
| Gesamtausbeute: 829 mg |           |          |          |           |          |

Papierchromatographisch (Versuchsbedingungen vgl.S.26) konnte anschliessend festgestellt werden, dass die Fraktion 1 und 2 in erster Linie Scopolamin enthielt; daneben fanden sich nur noch geringe Mengen Atropin. In diesen beiden

Fraktionen waren mengenmässig bereits rund 75 % der eluierten Alkaloidmenge enthalten und zwar als nahezu reines Scopolamin. In den nachfolgenden Fraktionen lagen Gemische von Scopolamin und Alkaloid I in wechselnder Zusammensetzung vor. Durch jenes in der Fraktion 2 aufgetretene, sehr steile Scopolaminmaximum deutete sich zunächst wohl ein ausgezeichneter Trenneffekt an; eine sinnvolle Erklärung für das nachfolgende Scopolamin-Alkaloid I-Gemisch kann nur unter einem gewissen Vorbehalt erfolgen. Es mag sein, dass die Elutionsgeschwindigkeit zu gross, das  $p_H$  der Pufferlösung zu niedrig und der Wassergehalt des Zellulosepulvers zu gering war, um eine vollständige Trennung zu ermöglichen. Im folgenden Versuch wurden diese Gesichtspunkte entsprechend berücksichtigt.

b) Versuch zur Trennung des Rohalkaloidbasengemisches an  $p_H$  4,8 gepuffertem Zellulosepulver

130 g Zellulosepulver (Macherey u. Nagel) wurden mit einem Zitronensäure-Phosphat-Puffer vom  $p_H$  4,8 (1845 ml 0,1 mol. Zitronensäurelösung + 887 ml 0,5 mol. Dinatriumphosphat-Lösung) in ein Glasrohr (Durchmesser 3,6 cm) eingeschlämmt und zu einer 39 cm hohen Säule zusammengepresst.

Daran anschliessend wurde die Säule solange mit Chloroform "gewaschen", bis das Chloroformelut kein Wasser mehr abschied. Nach ungefähr 10 Tagen war dies erreicht. Sodann wurde dieser Säule eine Lösung von 1,0 g Rohalkaloidbasengemisch in 5 ml Chloroform aufgesetzt und mit weiterem reinen Chloroform eluiert (Tropfgeschwindigkeit 50 Tropfen/Minute)

Die einzelnen Elute wurden analog den im vorigen Versuch gemachten Angaben aufgearbeitet.

Tab.30

| Fraktion               | Eluvmenge | Ausbeute | Fraktion | Eluvmenge | Ausbeute |
|------------------------|-----------|----------|----------|-----------|----------|
| 1                      | 100 ml    | 2 mg     | 11       | 100 ml    | 5 mg     |
| 2                      | "         | 16 mg    | 12       | "         | 5 mg     |
| 3                      | "         | 98 mg    | 13       | "         | 24 mg    |
| 4                      | "         | 103 mg   | 14       | "         | 23 mg    |
| 5                      | "         | 93 mg    | 15       | "         | 100 mg   |
| 6                      | "         | 39 mg    | 16       | "         | 7 mg     |
| 7                      | "         | 50 mg    | 17       | "         | 7 mg     |
| 8                      | "         | 37 mg    | 18       | 200 ml    | 20 mg    |
| 9                      | "         | 21 mg    | 19       | 1000 ml   | 165 mg   |
| 10                     | "         | 52 mg    | 20       | 500 ml    | 20 mg    |
| Gesamtausbeute: 823 mg |           |          |          |           |          |

Die papierchromatographische Untersuchung (Versuchsbedingungen vgl.S.26) der einzelnen Fraktionen ergab folgendes: die ersten beiden Fraktionen enthielten vor allem Scopolamin, daneben noch eine geringe Menge Atropin. In den Fraktionen 3-16 war nur Scopolamin nachweisbar, während die letzten Fraktionen sich wieder aus einem Gemisch von Scopolamin und Alkaloid I zusammensetzten.

Nachdem auch dieses Ergebnis den Erfolg weiterer Trennungsversuche mit Zellulosepulver sehr in Frage stellte, wurde an Stelle von Zellulosepulver zur Aufnahme der stationären Phase Silicagel herangezogen.

### 3) Versuche zur Trennung des Rohalkaloidbasengemisches an $p_H$ 6 gepuffertem Silicagel

660 g Silicagel (fein gepulvert, Merck) wurden in kleinen Anteilen und unter ständigem Umschütteln mit insgesamt 360 ml Zitronensäure-Phosphat-Puffer vom  $p_H$  6 ( 204 ml 0,1 mol. Zitronensäurelösung + 156 ml 0,5 mol. Dinatriumphosphat-Lösung ) versetzt und dann mit Chloroform in ein Glasrohr (Durchmesser 4,8 cm) eingeschlämmt und zu einer 48 cm hohen Säule zusammengepresst.

1,0 g Rohalkaloidbasengemisch wurde zunächst in 5 ml Chloroform gelöst und in dieser Form der Säule aufgesetzt. Anschliessend wurde mit Chloroform eluiert; die Elutionsgeschwindigkeit belief sich auf 5-6 Tropfen/Minute. Die abgenommenen Fraktionen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und die Rückstände durch Wägung jeweils quantitativ bestimmt (s.Tab.31)

Tab.31

| Fraktion                 | Elutmenge<br>ml | Ausbeute<br>mg | Fraktion | Elutmenge<br>ml | Ausbeute<br>mg |
|--------------------------|-----------------|----------------|----------|-----------------|----------------|
| 1                        | 240             | 590            | 29       | 35              | 6              |
| 2                        | 200             | 53             | 30       | 95              | 14             |
| 3                        | 20              | 5              | 31       | 25              | 3              |
| 4                        | 80              | 13             | 32       | 100             | 9              |
| 5                        | 21              | 3              | 33       | 100             | 7              |
| 6                        | 22              | 3              | 34       | 80              | 7              |
| 7                        | 95              | 12             | 35       | 95              | 9              |
| 8                        | 90              | 5              | 36       | 100             | 9              |
| 9                        | 90              | 6              | 37       | 100             | 10             |
| 10                       | 140             | 8              | 38       | 80              | 7              |
| 11                       | 90              | 5              | 39       | 60              | 4              |
| 12                       | 90              | 7              | 40       | 35              | 3              |
| 13                       | 140             | 7              | 41       | 100             | 8              |
| 14                       | 180             | 5              | 42       | 45              | 2              |
| 15                       | 250             | 14             | 43       | 80              | 3              |
| 16                       | 270             | 22             | 44       | 100             | 5              |
| 17                       | 600             | 12             | 45       | 70              | 3              |
| 18                       | 800             | 20             | 46       | 50              | 2              |
| 19                       | 700             | 10             | 47       | 90              | 5              |
| 20                       | 1000            | 33             | 48       | 85              | 6              |
| 21                       | 75              | 7              | 49       | 95              | 3              |
| 22                       | 90              | 5              | 50       | 90              | 3              |
| 23                       | 65              | 3              | 51       | 140             | 5              |
| 24                       | 100             | 9              | 52       | 150             | 5              |
| 25                       | 50              | 4              | 53       | 100             | 2              |
| 26                       | 75              | 10             | 54       | 120             | 2              |
| 27                       | 55              | 6              | 55       | 100             | 1              |
| 28                       | 80              | 12             | 56       | 100             | —              |
| Gesamtausbeute : 1018 mg |                 |                |          |                 |                |

Die einzelnen Fraktionen wurden wiederum papierchromatographisch (Versuchsbedingungen vgl.S.26) auf die darin enthaltenen Alkaloide untersucht und dabei ergab sich, dass die Trennung von Scopolamin, Atropin und Alkaloid I praktisch quantitativ gelungen war. In den Fraktionen 2-19 war reines Scopolamin, in den Fraktionen 23-55 reines Alkaloid I enthalten.

Die Fraktion 1 enthielt neben sehr geringen Mengen Atropin die eigentliche Hauptmenge Scopolamin, die Zwischenfraktion 20-22 nahezu reines Alkaloid I, das nur von äusserst geringen Mengen Scopolamin verunreinigt war. Wenn man von den geringfügigen Verunreinigungen einiger Fraktionen abstrahiert, dann gestattet dieser Versuch bereits eine Aussage über die quantitative Zusammensetzung des Rohalkaloidbasengemisches.

Fraktion 1-19: Scopolamin/Atropin = 786 mg ( 77 % der wiedergewonnenen Gesamtalkaloidmenge )

Fraktion 20-55: Alkaloid I = 232 mg ( 23 % der wiedergewonnenen Gesamtalkaloidmenge )

Obige Trennung konnte einwandfrei reproduziert werden. Ausserdem gelang es hierbei auch, die im Rohalkaloidbasengemisch vorhandene Atropinmenge quantitativ abzutrennen. Auf Grund dieses Reproduktionsversuches ergab sich für das Rohalkaloidbasengemisch folgende prozentuale Zusammensetzung:

Scopolamin : 76 %

Alkaloid I : 23 %

Atropin : ~1 %

Die prozentuale Zusammensetzung des Rohalkaloidbasengemisches war ursprünglich papierchromatographisch auf Grund der jeweiligen Fleckengrösse geschätzt worden (vgl.S.30). Ein Vergleich der Zahlenwerte mit den nun auf präparativem Weg gefundenen lässt die ausgezeichnete Übereinstimmung erkennen.



T E I L I V



A) Charakterisierung der aus der Droge  
isolierten Reinsubstanzen

1) Alkaloid I

a) Darstellung von Alkaloid I-Hydrobromid

0,642 g papierchromatographisch reines Alkaloid I wurden in 7-8 ml weitgehend wasserfreiem Chloroform gelöst und tropfenweise mit HBr-haltigem Chloroform im Überschuss versetzt (HBr dargestellt aus Tetralin und Brom). Es entstand eine flockige, weisse Fällung, die sich zusammenballte. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels ( $N_2$ -Atmosphäre-Vakuum,  $20^\circ$ ) blieb als Rückstand eine schaumige, weisse, hygroskopische Masse. Diese hygroskopische Eigenschaft verlor sie erst nach mehrmaligem, ziemlich verlustreichem Umfällen aus Isopropanol und absolutem Alkohol und anschliessendem Trocknen im Vakuumexsiccator. Erst nach dieser Vorbehandlung konnte Alkaloid I-HBr aus absolutem Alkohol durch Übersichten mit wasserfreiem Äther kristallisiert werden.

Das Alkaloid I-HBr kristallisiert in drusenförmig angeordneten Kristallnadeln. Der Schmelzpunkt liegt bei  $184^{\circ}$ - $186^{\circ}$  (korr.).

Für die Durchführung einer Elementaranalyse konnte infolge Mangels an Droge nicht genügend Hydrobromid dargestellt werden.

b) Darstellung von Alkaloid I-Pikrat

35 mg papierchromatographisch reines Alkaloid I wurden in 6 ml absolutem Alkohol gelöst; die Lösung wurde mit 2 ml gesättigter, alkoholischer Pikrinsäurelösung versetzt und im Vakuumexsiccator auf 3 ml eingeeengt. Dann wurde tropfenweise wasserfreier Äther zugesetzt, bis eine Trübung entstand. Nach mehrstündigem Stehen im Kühlschrank kristallisierte das Pikrat aus. Der entstandene Niederschlag von rosettenartig angeordneten, gelben Prismen wurde abfiltriert, mit Äther mehrmals nachgewaschen und im Exsiccator getrocknet. Die Ausbeute an Alkaloid I-Pikrat betrug 45 mg.

Der Schmelzpunkt lag bei  $177^{\circ}$  (korr.).

c) Elementaranalyse von Alkaloid I-Pikrat

Alkaloid I-Pikrat (Fp.  $177^{\circ}$ ) wurde 1 Stunde lang bei  $60^{\circ}$  und 11 Torr getrocknet.

Die Reproduzierbarkeit der durch Elementaranalyse für Alkaloid I-Pikrat ermittelten Summenformel war nicht sehr befriedigend. Es wurden deshalb mehrere Elementaranalysen durchgeführt und erst aus den entsprechenden Mittelwerten die Summenformel für Alkaloid I-Pikrat und Alkaloid I errechnet.

4. Analyse

Einwaage : 4,205 mg ; 7,85 mg CO<sub>2</sub> ; 1,68 mg H<sub>2</sub>O ;  
 Einwaage : 4,124 mg ; 0,367 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> ; 23/746,5 (t°/p mm)  
 Einwaage : 4,252 mg ; 10,92 ml n/50 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lsg.

5. Analyse

Einwaage : 4,161 mg ; 7,55 mg CO<sub>2</sub> ; 1,60 mg H<sub>2</sub>O ;  
 Einwaage : 4,276 mg ; 0,386 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> ; 26/756 (t°/p mm)

6. Analyse

Einwaage : 4,472 mg ; 8,33 mg CO<sub>2</sub> ; 1,87 mg H<sub>2</sub>O;

| Fp               | C%    | H%   | N%    | O%    |
|------------------|-------|------|-------|-------|
| 1. Analyse: 179° | 50,02 | 4,46 | 10,09 | 34,22 |
| 2. Analyse: 179° | 49,52 | 4,30 | 10,25 |       |
| 3. Analyse: 179° | 50,83 | 4,68 |       |       |
| Mittelwert       | 50,42 | 4,48 | 10,16 | 34,22 |

Alkaloid I-Pikrat : C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub> ( MG. 548,456 ) ;

|        |       |      |       |       |
|--------|-------|------|-------|-------|
|        | C %   | H %  | N %   | O %   |
| ber. : | 50,36 | 4,41 | 10,21 | 35,02 |
| gef. : | 50,42 | 4,48 | 10,16 | 34,22 |

Für Alkaloid I ergibt sich dann nach Abzug von 1 Mol Pikrinsäure folgende Bruttoformel:



Alkaloid I unterscheidet sich demnach in seiner Bruttoformel von Scopolamin (C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>) nur durch den Gehalt eines weiteren Sauerstoffatoms.

) Anmerkung: Mittelwerte s.o.

d) Vergleich von Alkaloid I-Pikrat mit den aus anderen  
D a t u r a - Arten isolierten Alkaloiden

Eine Identität von Alkaloid I mit Atropin, Scopolamin, Apoatropin, Meteloidin, Valeroidin, Homatropin, Tropin, Scopin, Norhyoscyamin, Tigloidin und Nikotin konnte in vorliegender Arbeit mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Auch mit den in der Literatur sonst noch beschriebenen, aus D a t u r a - Arten isolierten, noch unbekannten oder zum Teil in ihrer Struktur bereits aufgeklärten Alkaloiden dürfte Alkaloid I nicht identisch sein, wie nachstehender Literaturbericht zeigen wird. Bei Alkaloid I handelt es sich infolgedessen um ein bisher in D a t u r a - Arten noch nicht aufgefundenes unbekanntes Alkaloid.

Zum unmittelbaren Vergleich sei noch einmal der Pikrat- und Hydrobromid-Schmelzpunkt von Alkaloid I angegeben:

Alkaloid I-Pikrat: Fp  $177^{\circ}$  (korr.)

Alkaloid I-HBr : Fp  $184^{\circ}$ - $186^{\circ}$  (korr.)

- 1) W.C. E v a n s und M.W. P a r t r i d g e (5) berichten über ein aus D a t u r a f e r o x gewonnenes unbekanntes Alkaloid : Pikrat-Fp  $230^{\circ}$ ;
- 2) A.R o m e i k e und R.Z i m m e r m a n n (11) isolieren aus D a t u r a f e r o x ein Esteralkaloid, dessen Pikrat bei  $176^{\circ}$  schmilzt. Freundlicherweise wurde von diesen Autoren eine kleine Probe ihres Pikrates für die Durchführung eines Mischschmelzpunktes zur Verfügung gestellt. Die Schmelzpunktdepression betrug  $18^{\circ}$ .
- 3) W.C. E v a n s und M.W. P a r t r i d g e (17) beschreiben die Isolierung von 7-Hydroxy-3,6-ditiglyloxytropan aus den Wurzeln von D a t u r a s t r a m o n i u m, D a t u r a t a t u l a var. i n e r m i s

und *Datura ferox*. Die Schmelzpunkte verschiedener Salze wurden angegeben: Hydrobromid: Fp  $215^{\circ}$ - $216^{\circ}$ , Pikrat: Fp  $184^{\circ}$ - $185^{\circ}$ , Chloroplatinat: Fp  $252^{\circ}$ - $253^{\circ}$ .

- 4) E. S t e i n e g g e r und F. G e s s l e r (12) identifizieren ein aus *Datura innoxia* gewonnenes unbekanntes Alkaloid als Pikrat ( Fp  $77^{\circ}$ - $78^{\circ}$  ).
- 5) W.C. E v a n s und M. W e l l e n d o r f (18) berichten von der Isolierung eines  $\ell$ - $3\alpha,6\mu$ -Ditiglyloxytropans aus den Wurzeln von *Datura innoxia*. Der Pikratschmelzpunkt liegt bei  $150^{\circ}$ - $151^{\circ}$ .
- 6) Wie in vorliegender Arbeit auf papierchromatographischem Wege (vgl.S.32) gezeigt werden konnte, sind die von R.E.A. D r e y und G.E. F o s t e r (8) in *Datura sanguinea* nachgewiesenen unbekannten Alkaloide A und B ebenfalls nicht mit Alkaloid I identisch.

## 2) Scopolamin

Die Identität des aus der Droge isolierten Scopolamins mit dem Scopolamin "Merck" konnte eindeutig nachgewiesen werden.

- a) Papierchromatographisch (vgl.S.27 ff) stimmte bei Verwendung verschiedener Lösungsmittelgemische der  $R_f$ -Wert stets mit dem als Vergleichssubstanz verwendeten Scopolamin-"Merck" überein.
- b) Ein aus der Droge isoliertes, papierchromatographisch reines Scopolamin wurde in Alkohol gelöst und durch Zusatz einer alkoholischen Pikrinsäurelösung als Pikrat gefällt. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Essigester lag der Schmelzpunkt bei  $187^{\circ}$ - $188^{\circ}$  (korr.). Ein Mischschmelzpunkt dieses Pikrates mit dem aus Scopolamin-"Merck" analog hergestelltem Pikrat führte zu keiner Depression.
- c) Ein aus der Droge isoliertes Scopolamin wurde in wasserfreiem Chloroform gelöst und durch Zugabe von HBr-haltigem Chloroform im Überschuss als Hydrobromid ausgefällt. Es entstand ein bräunlicher, amorpher, stark hygroskopischer Niederschlag, der erst nach mehrmaligem Umfällen aus absolutem Alkohol seine Hygroskopizität verlor und dann aus absolutem Alkohol kristallisiert werden konnte.  
Der Schmelzpunkt lag nach dreimaligem Umkristallisieren aus absolutem Alkohol unter Zusatz von einigen Tropfen absolutem Äther konstant bei  $186^{\circ}$ - $188^{\circ}$  (korr.). Ein Mischschmelzpunkt mit Scopolamin-HBr-"Merck" führte zu keiner Depression.

- 1) Das nach c) hergestellte Scopolamin-HBr wurde 1 Stunde lang bei 60° und 11 Torr getrocknet.

Einwaage: 4,428 mg; 8,53 mg CO<sub>2</sub>; 2,28 mg H<sub>2</sub>O;

Einwaage: 4,348 mg; 0,135 cm<sup>3</sup>N<sub>2</sub>; 26/747,5(t°/p mm);

Scopolamin-HBr: C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>.HBr (MG. 384,27);

|        | C %   | H %  | N %  |
|--------|-------|------|------|
| ber. : | 53,13 | 5,77 | 3,46 |
| gef. : | 52,57 | 5,76 | 3,64 |

Damit war der eindeutige Beweis für das Vorhandensein von Scopolamin in der DATURA PITTIERI (Safford) erbracht.

### 3) Atropin

Da Atropin im Rohalkaloidbasengemisch nur zu etwa 1% enthalten ist und infolgedessen bei der präparativen Trennung nur sehr geringe Mengen gewonnen werden konnten, musste zur eindeutigen Charakterisierung von Atropin auf die Darstellung kristalliner Verbindungen verzichtet werden. Papierchromatographisch ist das Vorliegen von Atropin als gesichert anzusehen, nachdem im Vergleichschromatogramm mit authentischem Atropin auch bei Verwendung verschiedener Lösungsmittelsysteme keine Unterschiede aufgetreten sind (vgl.S.27 ff).

4) Kristallines stickstofffreies Produkt aus dem Samenöl

- a) Aus dem durch Extraktion der gepulverten Samen von DATURA PITTIERI (Safford) gewonnenen Öl hatte sich nach Entfernung des Lösungsmittels im Laufe einiger Wochen ein weisses kristallines Produkt abgeschieden (vgl.S.8). Das Produkt wurde vom Öl getrennt und mehrmals aus Essigester umkristallisiert. Es kristallisiert in farblosen Prismen und schmilzt bei  $282^{\circ}$ - $283^{\circ}$ (korr.).
- b) Diese Substanz ist in den meisten organischen Lösungsmitteln in der Kälte schwer, in Dioxan, Xylol und Chloroform gut löslich; beim Erwärmen löst sie sich dagegen auch in Essigester, Pyridin, Eisessig und in Äthylalkohol.
- c) Beim Behandeln einiger Kristalle mit konzentrierter Schwefelsäure erfolgte eine intensive Rotfärbung.
- d) Das kristalline Produkt ist entsprechend dem negativen Verlauf der Lassaigne'schen Stickstoffprobe stickstofffrei.
- e) Die gebräuchlichsten Farbreaktionen zum Nachweis von pflanzlichen und tierischen Sterinen wurden auf das kristalline Produkt übertragen:

1) Liebermann Burchardt'sche Reaktion

Einige Milligramm Substanz wurden in 1 ml Chloroform gelöst, dann mit wenig Acetanhydrid versetzt und schliesslich einige Tropfen konzentrierte Schwefelsäure zugegeben. Die Lösung färbte sich zunächst rosa und nahm dann einen dunkelroten Farbton an.

2) Keller-Kiliani-Reaktion

Einige Milligramm Substanz wurden in 1 ml Eisessig gelöst, mit 2 Tropfen  $\text{FeCl}_3$ -Lösung versetzt und mit 1 ml konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. An der Grenzschicht Schwefelsäure/Eisessig bil-

dete sich ein dunkelroter Ring; die Schwefelsäureschicht blieb farblos, die Essigsäureschicht dagegen färbte sich dunkelgrün.

5) Salkowsky-Reaktion

Einige Milligramm Substanz wurden in 2 ml Chloroform gelöst und die Lösung mit 1 ml konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. Die Schwefelsäureschicht blieb farblos. An der Schwefelsäure-Chloroform-Grenzschicht bildete sich ein dunkelroter Ring. Die Chloroformschicht war farblos; im UV-Licht dagegen zeigte sich eine grünliche Fluoreszenz.

Die bei obigen Reaktionen aufgetretenen Färbungen und Fluoreszenzen machen es wahrscheinlich, dass es sich bei dem kristallinen Produkt um ein zumindest sterinähnliches Produkt handelt.

- f) Das kristalline Produkt wurde 2 Stunden lang bei 60° und 11 Torr getrocknet.

Einwaage: 4,209 mg; 12,77 mg CO<sub>2</sub>; 4,13 mg H<sub>2</sub>O;



|        | C %   | H %   |
|--------|-------|-------|
| ber. : | 81,35 | 10,62 |
| gef. : | 81,23 | 10,77 |

In der Literatur ist noch keine Verbindung beschrieben, die mit diesem aus dem Samenöl von DATURA PITTIERI (Safford) gewonnenen Produkt identisch sein könnte.

Da das Hauptinteresse den Alkaloiden der Droge galt, wird die weitere Bearbeitung dieses stickstofffreien Inhaltsstoffes zurückgestellt.

## B) Z u s a m m e n f a s s u n g

In vorliegender Arbeit werden erstmalig die in den Früchten und Blättern enthaltenen Alkaloide der in Südamerika heimischen DATURA PITTIERI (Safford) eingehend untersucht.

Durch Extraktion der Droge mit ammoniakalischem Chloroform werden die höchsten Ausbeuten an Rohalkaloid erhalten. Der Alkaloidgehalt getrockneter Früchte beträgt durchschnittlich 0,62 %, derjenige getrockneter Blätter 0,54 %. Papierchromatographisch wird gezeigt, dass in den Früchten und ebenso in den Blättern dieser D a t u r a - Art neben grösseren Mengen Scopolamin kleinste Mengen Atropin enthalten sind. Daneben findet sich noch ein drittes Alkaloid, das nicht mit in D a t u r a - Arten vorkommenden, bekannten Alkaloiden identisch ist und als Alkaloid I bezeichnet wird.

In einem schwefelsauren Extrakt aus Früchten finden sich neben diesen Alkaloiden noch weitere stickstoffhaltige Verbindungen, die papierelektrophoretisch untersucht und differenziert werden. Neben Eiweisskomponenten unterschiedlicher Basizität sind in einem solchen Extrakt auch Stickstoffverbindungen enthalten, die zum Teil quartärer Natur sind, im UV-Licht blau fluoreszieren und in organischen Lösungsmitteln sehr schwer löslich sind. Möglicherweise handelt es sich hierbei um extrem wasserlösliche Alkaloide. Eine Isolierung dieser Substanzen erfolgt nicht.

Die präparative Trennung des Rohalkaloidgemisches in seine Komponenten wird adsorptionschromatographisch, verteilungschromatographisch und durch multiplikative Verteilung angestrebt. Eine quantitativ-präparative Trennung des Alkaloidgemisches gelingt bei Verwendung von Zitronensäure-Phosphat-gepuffertem Silicagel ( $p_H$  6) und Chloroform als Elutionsmittel. Die prozentuale Zusammensetzung des Rohalkaloidgemisches beträgt annähernd 76 % Scopolamin, 23 % Alkaloid I und ~1 % Atropin.

Alkaloid I wird in Form von Salzen charakterisiert und besitzt die Bruttoformel  $C_{17}H_{21}NO_5$  .

Aus dem Samenöl der untersuchten D a t u r a - Art wird ein stickstofffreier kristalliner Körper von der Zusammensetzung  $C_{27}H_{42}O_2$  gewonnen, der sterinartiger Natur sein dürfte.

C) L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- 1) : C.Sterne u. A.von Enderes,"Unsere Pflanzenwelt",455,  
Deutsche Buchgemeinschaft,1955;
- 2) : A.Tschirsch,Handbuch der Pharmakognosie,Bd.III,303,  
Chr.Herm.Tauchnitz-Verlag/Leipzig,1923;
- 3) : Hager,Handbuch der Pharmazie,Bd.I,1166,  
Springer-Verlag/Heidelberg,1949;
- 4) : Victor A.Reko,Heil- und Gewürzpflanzen 15,64-73 (1933);
- 5) : W.C.Evans u.M.W.Partridge,J.Pharmacy Pharmacol. ,  
1,593-98 (1949);
- 6) : W.C.Evans u.M.W.Partridge,Nature 171,656 (1953);
- 7) : W.C.Pyman u.F.L.Reynolds,Proceedings of the Chemical  
Society 24,234 (1908);
- 8) : R.E.A.Drey u.G.E.Foster,J.Pharmacy Pharmacol.  
5,839-48 (1953);
- 9) : R.Schmidt-Wetter,Taschenbuch der Pharmakognosie,317,  
Scherpe-Verlag/Krefeld 1950;
- 10): Katsumi Shimada,J.pharmac.Soc.Japan 71,1026 (1951);
- 11): A.Romeike und R.Zimmermann,Naturwissenschaften 45,  
187, (1958);
- 12): E.Steinegger u.F.Gessler,Pharmac.Acta Helvetiae 30,  
279 (1955);
- 13): W.E.Safford,J.Washington Acad.Sci. XI,187 (1921);
- 14): H.Thies u.F.W.Reuther,Naturwissenschaften 41,230 (1954);
- 15): C.Hartwich,Die menschlichen Genussmittel,519,  
Chr.Herm.Tauchnitz-Verlag/Leipzig,1911;
- 16): F.Cramer,Papierchromatographie,47,  
Verlag Chemie/Weinheim,1954;
- 17): W.C.Evans u.M.W.Partridge,J.chem.Soc.[London],1957,1102-3;
- 18): W.C.Evans u.M.Wellendorf,J.chem.Soc.[London],1958,1991-3;

## Lebenslauf

Am 19.6.1931 wurde ich als Sohn des Apothekers Georg O b e r l e und seiner Frau Johanna O b e r l e, geb. Nützel, in Erlangen geboren.

Von 1937 bis 1941 besuchte ich die Volksschule in Erlangen und trat dann in die Ohm-Oberschule in Erlangen über, an der ich 1950 das Abitur ablegte. Da Mangel an Lehrapotheken herrschte, studierte ich zunächst im Wintersemester 1950/51 und im Sommersemester 1951 Naturwissenschaften an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen. vom Oktober 1951 an war ich als Apothekerpraktikant in der Richard-Wagner-Apotheke in Nürnberg tätig und legte dort im September 1953 das Pharmazeutische Vorexamen ab. Anschliessend besuchte ich 6 Semester zum Studium der Pharmazie die Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg und absolvierte dort im September 1956 das Pharmazeutische Staatsexamen.

Bis Februar 1957 war ich darauf in der väterlichen Apotheke in Erlangen tätig und begann dann mit der Bearbeitung des Themas zur vorliegenden Dissertation. Nun bewerbe ich mich zum ersten Mal um den Doktorgrad bei der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen.









